

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日
Date of Application:

1 9 9 9 年 1 2 月 2 8 日

出 願 番 号
Application Number:

平成 1 1 年 特 許 願 第 3 7 2 8 2 6 号

[ST.10/C]:

[J P 1 9 9 9 - 3 7 2 8 2 6]

出 願 人
Applicant(s):

協和醗酵工業株式会社

2 0 0 3 年 6 月 4 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 4 3 3 3 0

【書類名】 特許願

【整理番号】 H11-1531Q3

【提出日】 平成11年12月28日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 5/00

【発明者】

 【住所又は居所】 千葉県松戸市小金 3 1 6

 【氏名】 梅澤 明弘

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都品川区西五反田 2 - 1 3 - 1 0

 【氏名】 秦 順一

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都練馬区栄町 3 - 2

 【氏名】 福田 恵一

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都世田谷区成城 5 - 1 2 - 1 5

 【氏名】 小川 聡

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都町田市旭町 3 丁目 6 番 6 号 協和発酵工業株式会
社 東京研究所内

 【氏名】 桜田 一洋

【特許出願人】

 【識別番号】 000001029

 【氏名又は名称】 協和発酵工業株式会社

 【代表者】 平田 正

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 008187

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 心筋形成能を有する成体骨髄由来細胞

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 骨髄から単離され、かつ心筋を形成する能力を有する細胞。

【請求項 2】 骨髄から単離され、かつ少なくとも心筋と脂肪細胞を形成する能力を有する多分化能幹細胞。

【請求項 3】 骨髄から単離され、かつ心筋のみに分化誘導される心筋幹細胞。

【請求項 4】 骨髄から単離され、かつ心筋のみに分化誘導される心筋前駆細胞

。【請求項 5】 骨髄から単離され、かつ心室筋細胞を形成する能力を有する、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 6】 骨髄から単離され、かつ洞結節細胞を形成する能力を有する、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 7】 骨髄から単離され、かつ染色体 DNA の脱メチル化により心筋を形成する能力を有する、請求項 1 記載の細胞。

【請求項 8】 染色体の脱メチル化が、デメチラーゼ、5 - アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド (DMSO) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種によるものであることを特徴とする、請求項 7 記載の細胞。

【請求項 9】 デメチラーゼが、配列番号 1 記載で表されるアミノ酸配列を有するデメチラーゼである、請求項 8 記載の細胞。

【請求項 10】 胎児の心臓発生領域で発現している因子により心筋の分化が促進される請求項 1 記載の細胞。

【請求項 11】 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴とする、請求項 10 記載の細胞。

【請求項 12】 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子により心筋の分化が促進される請求項 1 記載の細胞。

【請求項 13】 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれることを特徴と

する、請求項 1 2 記載の細胞。

【請求項 1 4】 サイトカインが血小板由来増殖因子 (PDGF) である、請求項 1 1 または 1 3 記載の細胞。

【請求項 1 5】 PDGF が配列番号 3 または 5 で表されるアミノ酸配列を有する PDGF である、請求項 1 4 記載の細胞。

【請求項 1 6】 接着分子がフィブロネクチンである、請求項 1 1 または 1 3 記載の細胞。

【請求項 1 7】 ビタミンがレチノイン酸である、請求項 1 1 または 1 3 記載の細胞。

【請求項 1 8】 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3 および TEF-5 からなる群から選ばれ、かつ該転写因子を発現させることを特徴とする、請求項 1 1 または 1 3 記載の細胞。

【請求項 1 9】 Nkx2.5/Csx が配列番号 9 で表されるアミノ酸配列を有する Nkx2.5/Csx である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 0】 GATA4 が配列番号 1 1 で表されるアミノ酸配列を有する GATA4 である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 1】 MEF-2A が配列番号 1 3 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2A である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 2】 MEF-2B が配列番号 1 5 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2B である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 3】 MEF-2C が配列番号 1 7 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2C である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 4】 MEF-2D が配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2D である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 5】 dHAND が配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を有する dHAND である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 6】 eHAND が配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を有する eHAND である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 7】 TEF-1 が配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列を有する TEF-1 で

ある、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 8】 TEF-3が配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-3である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 2 9】 TEF-5が配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-5である、請求項 1 8 記載の細胞。

【請求項 3 0】 FGF-2により心筋の分化が抑制される請求項 1 記載の細胞。

【請求項 3 1】 FGF-2が配列番号 7 または 8 記載のアミノ酸配列を有するFGF-2である、請求項 3 0 記載の細胞。

【請求項 3 2】 染色体DNAの脱メチル化剤を用いて、骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 3 3】 染色体DNAの脱メチル化剤が、デメチラーゼ、5 - アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド (DMSO) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴とする、請求項 3 2 記載の方法。

【請求項 3 4】 デメチラーゼが、配列番号 1 記載のアミノ酸配列で表されるデメチラーゼである、請求項 3 3 記載の方法。

【請求項 3 5】 胎児の心臓発生領域で発現している因子を用いることを特徴とする、骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 3 6】 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴とする、請求項 3 5 記載の骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 3 7】 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子を用いることを特徴とする、骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 3 8】 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴とする、請求項 3 7 記載の骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 3 9】 サイトカインが、血小板由来増殖因子 (PDGF) である、請求項 3 6 または 3 8 記載の骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 0】 PDGFが配列番号 3 または 5 記載のアミノ酸配列で表されるPDGF

である、請求項 3 9 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 1】 接着分子がフィブロネクチンである、請求項 3 6 または 3 8 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 2】 ビタミンがレチノイン酸である、請求項 3 6 または 3 8 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 3】 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3 および TEF-5 からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴する、請求項 3 6 または 3 8 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 4】 Nkx2.5/Csx が、配列番号 9 で表されるアミノ酸配列を有する Nkx2.5/Csx である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 5】 GATA4 が、配列番号 1 1 で表されるアミノ酸配列を有する GATA4 である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 6】 MEF-2A が、配列番号 1 3 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2A である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 7】 MEF-2B が、配列番号 1 5 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2B である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 8】 MEF-2C が、配列番号 1 7 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2C である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 4 9】 MEF-2D が、配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を有する MEF-2D である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 0】 dHAND が、配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を有する dHAND である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 1】 eHAND が、配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を有する eHAND である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 2】 TEF-1 が、配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列を有する TEF-1 である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 3】 TEF-3 が、配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列を有する TEF-3 である、請求項 4 3 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 4】 TEF-5が、配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-5である、請求項 4 3 記載の骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。

【請求項 5 5】 染色体DNA脱メチル化剤を有効成分として含有することを特徴とする心筋形成剤。

【請求項 5 6】 染色体DNA脱メチル化剤がデメチラーゼデメチラーゼ、5-アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド (DMSO) からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項 5 5 の心筋形成剤。

【請求項 5 7】 デメチラーゼが、配列番号 1 記載のアミノ酸配列で表されるデメチラーゼである、請求項 5 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 5 8】 胎児の心臓発生領域で発現している因子を有効成分として含有する心筋形成剤。

【請求項 5 9】 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着因子、ビタミンおよび転写因子より選ばれる群からなる少なくとも1種であることを特徴とする、請求項 5 8 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 0】 胎児の心臓発生で心筋分化を促進する因子を有効成分として含有することを特徴とする心筋形成剤。

【請求項 6 1】 心筋分化促進する因子がサイトカイン、接着因子、ビタミンまたは転写因子を有効成分として含有することを特徴とする、請求項 6 0 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 2】 サイトカインが血小板由来増殖因子 (PDGF) である、請求項 5 9 または 6 1 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 3】 PDGFが配列番号 3 または 5 記載のアミノ酸配列で表される、請求項 6 2 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 4】 接着分子がフィブロネクチンである、請求項 5 9 または 6 1 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 5】 ビタミンがレチノイン酸である、請求項 5 9 または 6 1 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 6】 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3およびTEF-5からなる群から選ばれる、請求

項 5 9 または 6 1 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 7】 Nkx2.5/Csxが、配列番号 9 記載のアミノ酸配列で表されるNkx2.5/Csxである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 8】 GATA4が、配列番号 1 1 記載のアミノ酸配列で表されるGATA4である、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 6 9】 MEF-2Aが、配列番号 1 3 記載のアミノ酸配列で表されるMEF-2Aである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 0】 MEF-2Bが、配列番号 1 5 記載のアミノ酸配列で表されるMEF-2Bである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 1】 MEF-2Cが、配列番号 1 7 記載のアミノ酸配列で表されるMEF-2Cである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 2】 MEF-2Dが、配列番号 1 9 記載のアミノ酸配列で表されるMEF-2Dである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 3】 dHANDが、配列番号 2 1 記載のアミノ酸配列で表されるdHANDである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 4】 eHANDが、配列番号 2 3 記載のアミノ酸配列で表されるeHANDである、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 5】 TEF-1が、配列番号 2 5 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-1である、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 6】 TEF-3が、配列番号 2 7 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-3である、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 7】 TEF-5が、配列番号 2 9 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-5である、請求項 6 6 記載の心筋形成剤。

【請求項 7 8】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、心臓疾患により破壊された心臓を再生する方法。

【請求項 7 9】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項の細胞を有効成分とする心臓再生治療薬。

【請求項 8 0】 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とす

る、先天遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子を心筋へ特異的に輸送する方法。

【請求項 8 1】 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を有効成分として含有する心臓疾患治療薬。

【請求項 8 2】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を特異的に認識する抗体を取得する方法。

【請求項 8 3】 請求項 8 2 記載の方法で取得された抗体を用いることを特徴とする、ヒト骨髄から心筋形成能を有する成体骨髄由来細胞を単離・精製する方法。

【請求項 8 4】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞の特異的な表面抗原を取得する方法。

【請求項 8 5】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を増殖する因子をスクリーニングする方法。

【請求項 8 6】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、心筋への分化を誘導する因子をスクリーニングする方法。

【請求項 8 7】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を不死化する因子をスクリーニングする方法。

【請求項 8 8】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞にテロメラーゼを発現させることを特徴とする、細胞の不死化方法。

【請求項 8 9】 テロメラーゼが、配列番号 3 1 記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである請求項 8 8 記載の方法。

【請求項 9 0】 テロメラーゼを発現させることにより、不死化させた請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を有効成分として含有する細胞治療薬。

【請求項 9 1】 テロメラーゼが、配列番号 3 1 記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである請求項 9 0 記載の細胞治療薬。

【請求項 9 2】 請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を含んだ培養上清。

【請求項 9 3】 請求項 9 0 の培養上清を用いることを特徴とする、請求項 1 の細胞を心筋に分化誘導する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、心筋形成能を有する骨髄細胞の単離、精製、培養、分化誘導法に関する。各種サイトカイン、転写因子などを用いた、心筋形成能を有する骨髄細胞の増殖方法および心筋への分化を制御する方法に関する。心筋形成能を有する骨髄細胞に特異的な表面抗原の取得方法、該表面抗原をコードする遺伝子の取得方法、該表面抗原特異的な抗体の取得方法、心筋形成能を有する骨髄細胞の増殖および心筋分化に関与する蛋白質および遺伝子の取得方法に関する。また、心筋形成能を有する骨髄細胞を用いた各種心臓疾患の治療薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

心筋は、出生前は自律拍動しながら活発に細胞分裂を行っている。しかし、出生と同時にその分裂能は喪失し、肝細胞のように再び細胞分裂能を獲得することではなく、また骨格筋とも異なり衛星細胞といった未分化な前駆細胞を持つこともない。従って、心筋梗塞、心筋炎または老化等に伴い心筋細胞が壊死すると、生体内では残存心筋細胞の細胞分裂ではなく細胞の肥大がおきる。心肥大は初期においては生理的適応であるが、また共存する心線維芽細胞の増殖による間質の線維化と相まって心臓自体の拡張機能の低下、さらには収縮機能の低下へと結びつき心不全を呈するようになる。心筋梗塞等による心不全のこれまでの治療は心収縮力の増強、血管拡張薬による心臓の圧負荷・容量負荷の軽減、利尿薬による血流量の減少等の対症療法を中心に行われてきた。これに対し、心臓移植は重症心不全に対する根本的な治療法であるが、臓器提供者の不足、脳死判定の難しさ、拒絶反応、医療費の高騰等の問題から心臓移植が一般的な医療に普及するのは簡単ではない。実際、心臓病は我が国の死亡原因の第3位となっており（厚生白書平成10年）、失われた心筋細胞を再生することができれば医療福祉の大きな前進につながると考えられる。

【0003】

現在までに、心筋細胞の性質を保存した細胞株としては、心房性ナトリウム利

尿ホルモンのプロモーターにSV40のlarge T抗原を組み換えて作製したトランスジェニックマウスの心房に生じた腫瘍から株化されたAT-1細胞があげられる[Science 239:1029-1038(1988)]。しかしながら、該細胞はin vivoに移植すると腫瘍を形成するため、細胞移植には適さないという問題がある。そこで、このような背景のもと、心筋を再構築するため以下の方法が考えられた。

【0004】

1つ目の方法は、心筋細胞以外の細胞を心筋に変換する方法である。これは、線維芽細胞にMyoDを導入すると骨格筋細胞に変換できることから類推された。これまでに、マウスの胎児性癌細胞であるP19細胞での成功例は示されているものの[Cell Struc.&Func., 21:101-110,(1996)]、非ガン細胞での成功例は報告されていない。

【0005】

2つ目の方法は、心筋細胞に再び分裂能を付与する方法である。これは、胎児期に心筋が拍動しながら分裂できる現象に基づいている。しかしながら、これまでに成功例は報告されていない。

3つ目の方法は、未分化な幹細胞から心筋細胞を誘導する方法である。すでに、胚性幹細胞(ES細胞)から心筋細胞を誘導できることが示されているが、胚性幹細胞自身を成体に移植するとカルシノーマを形成すること、抗原性などの問題が存在する[Nature Biotechnology, 17,139-142(1999)]。

【0006】

従って、胚性幹細胞を現実の医療へと応用するためには、少なくとも心筋前駆細胞あるいは、心筋細胞を純粹に精製する技術が不可欠である。抗原性の問題はクローン化の技術により解決できる可能性は示唆されているが、煩雑な操作を必要とすることから一般的な医療への応用は容易ではない。

中絶胎児から未分化な細胞である心筋前駆細胞を取得して移植に用いる方法も考えられており、動物を用いた実験では心筋として有効に機能することが知られている[Science, 264,98-101,(1994)]。しかしながら、この方法で大量の心筋前駆細胞を取得することは困難であり、倫理の観点からも一般的な医療への応用は容易ではない。

【0007】

成体骨髄には造血系幹細胞および血管幹細胞以外に間葉系幹細胞が存在し、間葉系幹細胞からは骨、軟骨、腱、靱帯、骨格筋、脂肪細胞、ストローマ細胞、肝臓 oval 細胞が分化誘導できることが報告されている [Science, 284, 143-147 (1999); Science, 284, 1168-1170 (1999)]。一方、最近、マウス成体の骨髄から取得した細胞から、心筋細胞が分化誘導できることが見い出された [J. Clinical Investigation, 103, 10-18 (1999)]。該報告は患者自身から骨髄液を取得して、in vitro で細胞培養および薬剤処理を行った後に、心臓の障害部位へ移植する細胞治療が現実的な医療として可能になることを示唆している [J. Clinical Investigation, 103; 591-592. (1999)]。しかしながら、該報告は、成体マウスの骨髄から樹立した不死化細胞の一部が心筋に分化できることを示したものにすぎない。また、成体骨髄中の心筋形成能を有する細胞の特性の同定、該細胞を増殖する方法、該細胞から効率的に心筋細胞に分化誘導する方法については明らかでなかった [J. Clinical Investigation, 103; 591-592 (1999)]。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

現在の心疾患治療より安全かつ確実な治療が望まれている。そこで、骨髄細胞中より心筋形成能を有する骨髄細胞を選別し、心筋形成能を有する骨髄細胞の増殖または分化をコントロールすることは、骨髄由来の細胞を用いた心筋の再生治療の開発に有用である。そのために、骨髄中の細胞から心筋形成能を有する細胞を特定して、該細胞の増殖または分化に働くサイトカインまたは転写因子を同定することが必要である。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者は上記問題点を開発すべく鋭意研究し、以下の結果を得た。すなわち、マウス骨髄由来の細胞株を、GFP (Green Fluorescent Protein) を発現するレトロウイルスベクターを用いて標識し、1つの細胞を蛍光顕微鏡下で追跡することで、心筋形成能を有する細胞が、心筋細胞および脂肪細胞の少なくとも2種類の異なる細胞を分化誘導できる多分化能 (Pluripotent) を持った幹細胞であること

を見い出した。また、同時に増殖性を有し、心筋だけを形成する心筋幹細胞、および有限の細胞分裂能を有し、心筋だけを形成する心筋前駆細胞が存在することも見い出した。さらに、該幹細胞は通常の培養条件下ではすでに報告されている 5-アザシチジンだけでなく、DMSO (Dimethyl sulfoxide) などの他のゲノムDNAの脱メチル化剤の投与によっても、確率的 (stochastic) に心筋、脂肪細胞および骨格筋細胞の系列に分化することを見出し、ゲノムDNAの脱メチル化が骨髄由来の細胞からの心筋の分化誘導に有効であることを明らかにした。また確率的 (stochastic) な分化が、培養条件やサイトカインの投与、転写因子の強制発現などにより心筋、脂肪細胞および骨格筋細胞への分化の効率を改変できることを見い出した。すなわち、血小板由来増殖因子(PDGF)等のサイトカインあるいはall-transレチノイン酸の投与、またはフィブロネクチンでコートした培養皿で培養することにより、心筋形成の割合を増加させることを見い出した。また、繊維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2)の投与により、心筋への分化を抑制できることも見い出した。

【0010】

すなわち、本発明は以下の(1)～(93)を提供するものである。

- (1) 骨髄から単離され、かつ心筋を形成する能力を有する細胞。
- (2) 骨髄から単離され、かつ少なくとも心筋と脂肪細胞を形成する能力を有する多分化能幹細胞。
- (3) 骨髄から単離され、かつ心筋のみに分化誘導される心筋幹細胞。
- (4) 骨髄から単離され、かつ心筋のみに分化誘導される心筋前駆細胞。
- (5) 骨髄から単離され、かつ心室筋細胞を形成する能力を有する、上記(1)～(4)のいずれか1項に記載の細胞。
- (6) 骨髄から単離され、かつ洞結節細胞を形成する能力を有する、上記(1)～(4)のいずれか1項に記載の細胞。
- (7) 骨髄から単離され、かつ染色体DNAの脱メチル化により心筋を形成する能力を有する、上記(1)に記載の細胞。
- (8) 染色体の脱メチル化が、デメチラーゼ、5-アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド(DMSO)からなる群から選ばれる少なくとも1種によるもので

あることを特徴とする、上記（７）記載の細胞。

（９） デメチラーゼが、配列番号 1 記載で表されるアミノ酸配列を有するデメチラーゼである、上記（８）記載の細胞。

（１０） 胎児の心臓発生領域で発現している因子により心筋の分化が促進される上記（１）記載の細胞。

【0 0 1 1】

（１１） 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも１種であることを特徴とする、上記（１０）記載の細胞。

（１２） 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子により心筋の分化が促進される上記（１）記載の細胞。

（１３） 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれることを特徴とする、上記（１２）記載の細胞。

（１４） サイトカインが血小板由来増殖因子（PDGF）である、上記（１１）または（１３）記載の細胞。

（１５） PDGFが配列番号 3 または 5 で表されるアミノ酸配列を有するPDGFである、上記（１４）記載の細胞。

（１６） 接着分子がフィブロネクチンである、上記（１１）または（１３）記載の細胞。

（１７） ビタミンがレチノイン酸である、上記（１１）または（１３）記載の細胞。

（１８） 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3およびTEF-5からなる群から選ばれ、かつ該転写因子を発現させることを特徴とする、上記（１１）または（１３）記載の細胞。

（１９） Nkx2.5/Csxが配列番号 9 で表されるアミノ酸配列を有するNkx2.5/Csxである、上記（１８）記載の細胞。

（２０） GATA4が配列番号 1 1 で表されるアミノ酸配列を有するGATA4である、上記（１８）記載の細胞。

【 0 0 1 2 】

- (2 1) MEF-2Aが配列番号 1 3 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Aである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 2) MEF-2Bが配列番号 1 5 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Bである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 3) MEF-2Cが配列番号 1 7 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Cである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 4) MEF-2Dが配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Dである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 5) dHANDが配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を有するdHANDである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 6) eHANDが配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を有するeHANDである、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 7) TEF-1が配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-1である、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 8) TEF-3が配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-3である、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (2 9) TEF-5が配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-5である、上記 (1 8) 記載の細胞。
- (3 0) FGF-2により心筋の分化が抑制される上記 (1) 記載の細胞。

【 0 0 1 3 】

- (3 1) FGF-2が配列番号 7 または 8 記載のアミノ酸配列を有するFGF-2である、上記 (3 0) 記載の細胞。
- (3 2) 染色体DNAの脱メチル化剤を用いて、骨髓由来の細胞から心筋を形成する方法。
- (3 3) 染色体DNAの脱メチル化剤が、デメチラーゼ、5 - アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド (DMSO) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種であることを特徴とする、上記 (3 2) 記載の方法。
- (3 4) デメチラーゼが、配列番号 1 記載のアミノ酸配列で表されるデメチラ

ーゼである、上記（33）記載の方法。

（35） 胎児の心臓発生領域で発現している因子を用いることを特徴とする、骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（36） 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、上記（35）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（37） 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子を用いることを特徴とする、骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（38） 胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子がサイトカイン、接着分子、ビタミンおよび転写因子からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、上記（37）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（39） サイトカインが、血小板由来増殖因子（PDGF）である、上記（36）または（38）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（40） PDGFが配列番号3または5記載のアミノ酸配列で表されるPDGFである、上記（39）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【0014】

（41） 接着分子がフィブロネクチンである、上記（36）または（38）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（42） ビタミンがレチノイン酸である、上記（36）または（38）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（43） 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3およびTEF-5からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴する、上記（36）または（38）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（44） Nkx2.5/Csxが、配列番号9で表されるアミノ酸配列を有するNkx2.5/Csxである、上記（43）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

（45） GATA4が、配列番号11で表されるアミノ酸配列を有するGATA4である、上記（43）記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(4 6) MEF-2Aが、配列番号 1 3 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Aである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(4 7) MEF-2Bが、配列番号 1 5 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Bである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(4 8) MEF-2Cが、配列番号 1 7 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Cである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(4 9) MEF-2Dが、配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を有するMEF-2Dである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(5 0) dHANDが、配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を有するdHANDである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

【0 0 1 5】

(5 1) eHANDが、配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を有するeHANDである、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(5 2) TEF-1が、配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-1である、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(5 3) TEF-3が、配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-3である、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(5 4) TEF-5が、配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列を有するTEF-5である、上記 (4 3) 記載の骨髄由来の細胞から心筋を形成する方法。

(5 5) 染色体DNA脱メチル化剤を有効成分として含有することを特徴とする心筋形成剤。

(5 6) 染色体DNA脱メチル化剤がデメチラーゼデメチラーゼ、5-アザシジンおよびジメチルスルフォキシド (DMSO) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種である、上記 (5 5) の心筋形成剤。

(5 7) デメチラーゼが、配列番号 1 記載のアミノ酸配列で表されるデメチラーゼである、上記 (5 6) 記載の心筋形成剤。

(5 8) 胎児の心臓発生領域で発現している因子を有効成分として含有する心筋形成剤。

(5 9) 胎児の心臓発生領域で発現している因子がサイトカイン、接着因子、

ビタミンおよび転写因子より選ばれる群からなる少なくとも 1 種であることを特徴とする、上記 (58) 記載の心筋形成剤。

(60) 胎児の心臓発生で心筋分化を促進する因子を有効成分として含有することを特徴とする心筋形成剤。

【0016】

(61) 心筋分化促進する因子がサイトカイン、接着因子、ビタミンまたは転写因子を有効成分として含有することを特徴とする、上記 (60) 記載の心筋形成剤。

(62) サイトカインが血小板由来増殖因子 (PDGF) である、上記 (59) または (61) 記載の心筋形成剤。

(63) PDGF が配列番号 3 または 5 記載のアミノ酸配列で表される、上記 (62) 記載の心筋形成剤。

(64) 接着分子がフィブロネクチンである、上記 (59) または (61) 記載の心筋形成剤。

(65) ビタミンがレチノイン酸である、上記 (59) または (61) 記載の心筋形成剤。

(66) 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3 および TEF-5 からなる群から選ばれる、上記 (59) または (61) 記載の心筋形成剤。

(67) Nkx2.5/Csx が、配列番号 9 記載のアミノ酸配列で表される Nkx2.5/Csx である、上記 (66) 記載の心筋形成剤。

(68) GATA4 が、配列番号 11 記載のアミノ酸配列で表される GATA4 である、上記 (66) 記載の心筋形成剤。

(69) MEF-2A が、配列番号 13 記載のアミノ酸配列で表される MEF-2A である、上記 (66) 記載の心筋形成剤。

(70) MEF-2B が、配列番号 15 記載のアミノ酸配列で表される MEF-2B である、上記 (66) 記載の心筋形成剤。

【0017】

(71) MEF-2C が、配列番号 17 記載のアミノ酸配列で表される MEF-2C である

、上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７２） MEF-2Dが、配列番号 1 9 記載のアミノ酸配列で表されるMEF-2Dである

、上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７３） dHANDが、配列番号 2 1 記載のアミノ酸配列で表されるdHANDである、
上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７４） eHANDが、配列番号 2 3 記載のアミノ酸配列で表されるeHANDである、
上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７５） TEF-1が、配列番号 2 5 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-1である、
上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７６） TEF-3が、配列番号 2 7 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-3である、
上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７７） TEF-5が、配列番号 2 9 記載のアミノ酸配列で表されるTEF-5である、
上記（６６）記載の心筋形成剤。

（７８） 上記（１）～（６）のいずれか１項に記載の細胞を用いることを特徴とする、心臓疾患により破壊された心臓を再生する方法。

（７９） 上記（１）～（６）のいずれか１項の細胞を有効成分とする心臓再生治療薬。

（８０） 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された上記（１）～（６）のいずれか１項に記載の細胞を用いることを特徴とする、先天遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子を心筋へ特異的に輸送する方法。

【 0 0 1 8 】

（８１） 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された上記（１）～（６）のいずれか１項に記載の細胞を有効成分として含有する心臓疾患治療薬。

（８２） 上記（１）～（６）のいずれか１項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を特異的に認識する抗体を取得する方法。

（８３） 上記（８２）記載の方法で取得された抗体を用いることを特徴とする、ヒト骨髄から心筋形成能を有する成体骨髄由来細胞を単離・精製する方法。

(84) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞の特異的な表面抗原を取得する方法。

(85) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を増殖する因子をスクリーニングする方法。

(86) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、心筋への分化を誘導する因子をスクリーニングする方法。

(87) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を不死化する因子をスクリーニングする方法。

(88) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞にテロメラーゼを発現させることを特徴とする、細胞の不死化方法。

(89) テロメラーゼが、配列番号31記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである上記(88)記載の方法。

(90) テロメラーゼを発現させることにより、不死化させた上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を有効成分として含有する細胞治療薬。

【0019】

(91) テロメラーゼが、配列番号31記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである上記(90)記載の細胞治療薬。

(92) 上記(1)～(6)のいずれか1項に記載の細胞を含んだ培養上清。

(93) 上記(90)の培養上清を用いることを特徴とする、上記(1)の細胞を心筋に分化誘導する方法。

【0020】

【発明の実施の形態】

本発明の心筋を形成する能力(以下、心筋形成能と略記する。)を有する骨髄細胞とは、成体骨髄に存在する多分化能幹細胞、心筋幹細胞および心筋前駆細胞をいう。

多分化能幹細胞とは、心筋細胞および脂肪細胞の少なくとも2種類の異なる細胞を分化誘導できる細胞である。心筋幹細胞とは、増殖性を有し、心筋だけを形成する細胞である。心筋幹細胞に分化を誘導すると、心筋細胞および心筋幹細胞の2種類の細胞が形成される。心筋前駆細胞とは、有限の細胞分裂能を有し、心

筋だけを形成する細胞である。心筋前駆細胞に分化を誘導すると心筋幹細胞とは異なり心筋細胞のみを形成する。

【 0 0 2 1 】

以下に、ヒト、ラット、マウスなどのほ乳類の成体骨髄から心筋形成能を有する骨髄細胞を分画する方法を説明する。

1. 心筋形成能を有する骨髄細胞の分画方法

ヒトの骨髄より心筋形成能を有する骨髄細胞を取得する方法としては、安全かつ効率的に取得される方法であれば特に限定されないが、S.E.Haynesworth et al. Bone, 13,81(1992)に記載された方法に基づき行うことができる。

【 0 0 2 2 】

胸骨または腸骨から骨髄穿刺を行う。骨髄穿刺を行う場所の皮膚面を消毒し、局所麻酔を行う。特に骨膜下を十分に麻酔する。骨髄穿刺針の内筒を抜き、5000 unitsのヘパリンを入れた10ml注射器を装着して必要量の骨髄液を速やかに吸引する。平均的には10ml~20mlの骨髄液を吸引する。骨髄穿刺針を取り外し、10分間程圧迫止血する。取得した骨髄液を1,000×gの遠心分離により骨髄細胞を回収した後、該骨髄細胞をPBS(Phosphate Buffered Saline)で洗浄する。本ステップを2回繰り返した後、該骨髄細胞を10%のFBS(牛胎仔血清)を含むα-MEM(α-modification of MEM)、DMEM(Dulbecco's modified MEM)あるいはIMDM(Isocove's modified Dulbesso's medium)等の細胞培養用培地に再浮遊させることにより骨髄細胞液を得ることができる。

【 0 0 2 3 】

該骨髄細胞液から心筋形成能を有する骨髄細胞を分離する方法としては、溶液中に混在する他の細胞、例えば血球系細胞、造血幹細胞、血管幹細胞および線維芽細胞などを除去できれば特に限定されないが、M.F.Pittenger et al. Science, 284,143(1999)に記載された方法に基づき骨髄液を密度1.073g/mlのpercollに重層した後、1,100×gで30分間遠心分離して界面の細胞を回収することにより分離することができる。また、該骨髄細胞液に10×PBSを加えて9/10に希釈したpercollを同容量加えて混合した後に、20,000×gで30分間遠心分離し、密度1.075~1.060の画分を回収することで該心筋形成能を有する骨髄細胞を取得することによ

り、該心筋形成能を有する骨髄細胞を含む骨髄細胞混合物を取得することができる。

【0024】

上記方法により取得した該心筋形成能を有する骨髄細胞を含む骨髄細胞混合物は、96穴の培養プレートの各穴に1細胞のみが注入されるように希釈して、1細胞由来のクローンを多数調製した後、以下に記載した心筋形成能を有する骨髄細胞から心筋を誘導する方法を用いて該クローンを処理し、自律拍動する細胞が出現するクローンを観察することにより、該心筋形成能を有する骨髄細胞を選別することができる。多分化能幹細胞、心筋幹細胞および心筋前駆細胞は、後述するGFP (Green Fluorescent Protein) などのレポーター遺伝子を用いたシングルセル・マーキング (single cell marking) を行うことにより選別することができる。

【0025】

ラットやマウスから心筋形成能を有する骨髄細胞を取得する方法としては、特に限定されないが以下の手順で取得することができる。ラットあるいはマウスを頸椎脱臼により致死させ、70%エタノールで充分消毒した後、大腿骨の皮膚ならびに大腿四頭筋を切除する。膝関節の部分にハサミをいれて関節をはずし、大腿骨背面の筋肉を除去する。股関節の部分にハサミを入れて関節を外し、大腿骨を取り出す。大腿骨に付着している筋肉をハサミでできるだけ除去した後、大腿骨の両端をハサミで切断する。骨の太さに応じた適当なサイズの針を2.5mlの注射器に装着し、10%のFBS (牛胎仔血清) を含む α -MEM、DMEM、あるいはIMDM等の細胞培養用培地を約1.5mlを注射器に注入した後、注射針の先端を大腿骨の膝関節側の断端に差し込む。注射器内の培養液を骨髄内に注入することで、股関節側の断端から骨髄細胞が押し出される。得られた骨髄細胞はピペッティングにより培養液中に浮遊させる。該骨髄液からは、上記のヒト骨髄液からの骨髄細胞の分離と同様の方法により、心筋形成能を有する骨髄細胞を分離することができる。

【0026】

2. 心筋形成能を有する骨髄細胞の培養方法

上記 1 の方法により分離した、心筋形成能を有する骨髄細胞を培養するために用いる培地としては、通常公知（組織培養の技術基礎編 第三版、朝倉書店1996）の組成の培地をもちいることができるが、好ましくは牛等の血清を5～20%添加した、 α -MEM(α -modification of MEM)、DMEM(Dulbecco's modified MEM)あるいはIMDM(Isocove's modified Dulbecco's medium)等の細胞培養用培地などが用いられる。培養条件は、細胞が培養可能であればいかなる条件でもよいが、培養温度は33～37℃が好ましく、さらに5～10%の二酸化炭素ガスで満たした孵卵器で培養することが好ましい。心筋形成能を有する骨髄細胞は、通常の組織培養用のプラスチック製培養皿に接着して増殖することが好ましい。細胞が培養皿一面に増殖する頃、培地を除去して、トリプシン EDTA溶液を加えることで細胞を浮遊させる。浮遊した細胞は、PBSあるいは該細胞培養用の培地で洗浄後、該細胞培養用の培地で5倍から20倍希釈して新しい培養皿に添加することで、さらに継代培養することができる。

【0027】

3. 心筋形成能を有する骨髄細胞から心筋を誘導する方法

心筋形成能を有する骨髄細胞より心筋を誘導する方法としては、（1）DNA脱メチル化剤処理による分化誘導、（2）胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子による分化誘導、（3）心筋形成能を有する骨髄細胞または該骨髄細胞から分化した心筋細胞の培養上清による分化誘導などの方法を挙げることができる。これらの方法を単独あるいは組み合わせることにより、心筋形成能を有する骨髄細胞から心筋を誘導することができる。

DNA脱メチル化剤としては、DNAに対して脱メチル化を引き起こす化合物であればいかなるものでもよい。DNAの脱メチル化剤としては、染色体DNA中のGpC配列中のシトシン残基のメチル化を特異的に除去する酵素であるデメチラーゼ、5-アザシチジン（以下5-aza-Cと略す）、DMSO(dimethyl sulfoxide)などがあげられる。デメチラーゼとしては、配列番号1記載のアミノ酸配列を有するデメチラーゼ[Nature, 397, 579-583 (1999)]などがあげられる。DNAの脱メチル化剤処理による分化誘導の具体例を以下に示す。

【0028】

3mmol/lから10mmol/lの間の濃度になるように5-aza-Cを培地中添加し、24時間上記培養条件下でインキュベーションする。培地を交換することで5-アザシチジンを除去し、さらに2～3週間培養することで心筋細胞を取得することができる。形成される心筋は培養2～3週間目では洞結節細胞が中心であるが、培養4週間目以降心室型心筋細胞を分化誘導することができる。

【0029】

胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋の分化に働く因子としては、サイトカイン、ビタミン、接着分子、転写因子などをあげることができる。

サイトカインとしては、心筋形成能を有する骨髄細胞に、発生段階で心筋分化を促進するものであればいかなるサイトカインでもよい。

【0030】

具体的には、10～40ng/mlの血小板由来増殖因子（以下、PDGFと略記する。）などをあげることができる。

また、心筋の分化を抑制するサイトカインに対する阻害剤を用いることにより、心筋形成能を有する骨髄細胞に、発生段階で心筋分化を促進することも可能である。

【0031】

心筋の分化を抑制するサイトカインとしては、線維芽細胞増殖因子-2（以下、FGF-2と略記する。）などをあげることができる。

心筋の分化を抑制するサイトカンに対する阻害剤としては、サイトカインの情報伝達を阻害する物質、例えばサイトカインを中和する抗体、低分子化合物などをあげることができる。

【0032】

ビタミンとしては、レチノイン酸など心筋形成能を有する骨髄細胞に、発生段階で心筋分化を促進するものであればいかなるビタミンでもよい。

具体的には、 10^{-9} Mのレチノイン酸などをあげることができる。

接着分子としては、フィブロネクチンなど発生段階で心臓形成部位で発現して

いれはいかなる接着分子でもよい。具体的には、フィブロネクチンをコートした培養皿で該心筋形成能を有する骨髄細胞を培養することにより心筋分化を促進することができる。

【0033】

転写因子としては、ホメオボックス型転写因子Nkx2.5/Csx（配列番号9：アミノ酸配列、配列番号10：塩基配列）、GATAファミリーに属するZinc finger型転写因子GATA4（配列番号11：アミノ酸配列、配列番号12：塩基配列）、myocyte enhancer factor-2(MEF-2)ファミリーに属する転写因子MEF-2A（配列番号13：アミノ酸配列、配列番号14：塩基配列）、MEF-2B（配列番号15：アミノ酸配列、配列番号16：塩基配列）、MEF-2C（配列番号17：アミノ酸配列、配列番号18：塩基配列）とMEF-2D（配列番号19：アミノ酸配列、配列番号20：塩基配列）、basic helix loop helix型転写因子に属するdHAND（配列番号21：アミノ酸配列、配列番号22：塩基配列）とeHAND（配列番号23：アミノ酸配列、配列番号24：塩基配列）、TEA-DNA結合型転写因子ファミリーに属するTEF-1（配列番号25：アミノ酸配列、配列番号26：塩基配列）、TEF-3（配列番号27：アミノ酸配列、配列番号28：塩基配列）とTEF-5（配列番号29：アミノ酸配列、配列番号30：塩基配列）などをあげることができる。

【0034】

上述した因子は、該因子をコードするDNAを心筋形成能を有する骨髄細胞中に導入し、DNAを発現させることにより心筋の分化を誘導させることができる。また、該因子を心筋形成能を有する骨髄細胞培養液中に添加することによっても、心筋を分化を誘導させることができる。

自律拍動する心筋細胞の培養上清を心筋形成能を有する骨髄細胞培養液中に添加することで心筋の分化を誘導させることができる。

【0035】

また、以下に示す方法で得られる心筋分化誘導因子を用いても、心筋形成能を有する骨髄由来細胞を心筋に分化誘導することができる。

4. 心筋分化を誘導する因子の取得方法

心筋分化を誘導する因子の取得方法としては、自律拍動する細胞の培養上清に

各種プロテアーゼ阻害剤を添加して、透析、塩析ならびにクロマトグラフィーなどを組み合わせることにより取得することができる。

【0036】

さらにマイクロシーケンサーを用いて、上記の心筋分化誘導因子の部分アミノ酸配列を決定し、該アミノ酸配列に基づき設計したDNAプローブを用いて該自律拍動する細胞より作製したcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、心筋分化誘導因子の遺伝子を取得することができる。

【0037】

5. 心筋形成能を有する骨髄細胞を含む心臓再生治療薬または心臓疾患治療薬

本発明の心筋形成能を有する骨髄細胞は、心臓再生または心臓疾患の治療薬として用いることができる。

心臓疾患としては、心筋梗塞、虚血性心疾患、うっ血性心不全、不整脈、肥大型心筋症、拡張型心筋症、心筋炎、弁膜症などをあげることができる。

心臓再生の治療薬としては、心筋形成能を有する骨髄細胞を高純度で含み、心臓の障害部位ならび大きさに応じて、該心筋形成能を有する骨髄細胞を増殖させたもの、好ましくは、心筋形成能を有する骨髄細胞から、心筋内皮細胞(Endocardial endothelial cell)、クッション細胞(Cushion cell)、心室型心筋細胞、心房型心筋細胞、洞結節細胞等の心臓を形成する様々な細胞へ分化誘導できる細胞が用いられる。

【0038】

該治療薬は、心筋梗塞の患者骨髄液中から上述した密度勾配遠心分離法、後述する心筋形成能を有する細胞を特異的に認識する抗体を用いたパニング法[J. Immunol., 141(8), 2797-800.(1988)]あるいはFACS法[Int. Immunol., 275-83, (1998)]、または心筋形成能を有する骨髄細胞に特異的な遺伝子のプロモーターを用いたレポーター系を構築する方法により該心筋形成能を有する骨髄細胞の精製を行うことにより、製造することができる。

【0039】

また該治療薬には、後述する心筋形成剤を用いて、該心筋形成能を有する骨髄

細胞を心筋へ分化誘導させた細胞、高齢者の骨髓から取得した骨髓細胞より、後述する不死化方法を利用して細胞分裂能を賦活させた心筋形成能を有する細胞も含まれる。

上記方法で製造した該細胞治療薬は、上記心筋細胞を有する細胞を特異的に認識する抗体とFACS法を組み合わせることで純度を検定することができる。

【0040】

上記の治療薬を障害部位に輸送する方法としては、カテーテルを利用する方法等が用いられる。以下虚血性心疾患を例に具体的な方法を示す。虚血性心疾患で障害を受けた心筋細胞は、血管狭窄部位の下流に存在することから、上記の細胞を注入する前に、冠動脈造影法（図説病態内科講座 循環器—1、MEDICAL VIEW, 1993）により血管の狭窄部位を同定しておく必要がある。器質的狭窄病変は狭窄病態に応じて求心性狭窄、偏心性狭窄、多発性壁不整に分類され、特に偏心性狭窄はタイプIおよびタイプIIの2つのタイプに細分類される。狭窄形態は狭心症の経過、予後に関連することが知られており、タイプIIの偏心性狭窄や多発性壁不整は不安定狭心症例に多く、心筋梗塞に移行する可能性が高い。血管が完全に狭窄している場合には、注入する細胞が障害部位に到達しない可能性があるため、事前に経皮的冠動脈形成術(PTCA)あるいは血栓溶解療法などにより狭窄部位を再開することが必要である。障害を受けた心筋細胞の部位に応じて、注入する細胞を心室型や心房型のように区別することができる。カテーテルの挿入法は右上腕動脈より挿入するSones法（図説病態内科講座 循環器—1、MEDICAL VIEW, 1993）あるいは大腿動脈より挿入するJundkins法（図説病態内科講座 循環器—1、MEDICAL VIEW, 1993）を利用することができる。

【0041】

6. 心筋形成剤

本発明の心筋形成剤は、染色体DNAの脱メチル化剤、胎児の心臓発生領域で発現している因子、あるいは胎児の心臓発生領域で心筋分化を促進する因子のいずれかの心筋誘導因子の少なくとも一種類を有効成分として含有し、骨髓由来の細胞を心筋誘導させることができる。

【0042】

心筋誘導因子としては、サイトカイン、ビタミン、接着分子、転写因子などをあげることができる。

サイトカインとしては、心筋形成能を有する骨髄細胞に、発生段階で心筋分化を促進するものであればいかなるサイトカインでもよい。

具体的には、10~40ng/mlのPDGFなどをあげることができる。

【0043】

ビタミンとしては、レチノイン酸など心筋形成能を有する骨髄細胞に、発生段階で心筋分化を促進するものであればいかなるビタミンでもよい。

具体的には、 10^{-9} Mのレチノイン酸などをあげることができる。

接着分子としては、フィブロネクチンなど発生段階で心臓形成部位で発現していればいかなる接着分子でもよい。具体的には、フィブロネクチンをコートした培養皿で該心筋形成能を有する骨髄細胞を培養することにより心筋分化を促進することができる。

【0044】

転写因子としては、ホメオボックス型転写因子Nkx2.5/Csx（配列番号9：アミノ酸配列、配列番号10：塩基配列）、GATAファミリーに属するZinc finger型転写因子GATA4（配列番号11：アミノ酸配列、配列番号12：塩基配列）、myocyte enhancer factor-2(MEF-2)ファミリーに属する転写因子MEF-2A（配列番号13：アミノ酸配列、配列番号14：塩基配列）、MEF-2B（配列番号15：アミノ酸配列、配列番号16：塩基配列）、MEF-2C（配列番号17：アミノ酸配列、配列番号18：塩基配列）とMEF-2D（配列番号19：アミノ酸配列、配列番号20：塩基配列）、basic helix loop helix型転写因子に属するdHAND（配列番号21：アミノ酸配列、配列番号22：塩基配列）とeHAND（配列番号23：アミノ酸配列、配列番号24：塩基配列）、TEA-DNA結合型転写因子ファミリーに属するTEF-1（配列番号25：アミノ酸配列、配列番号26：塩基配列）、TEF-3（配列番号27：アミノ酸配列、配列番号28：塩基配列）とTEF-5（配列番号29：アミノ酸配列、配列番号30：塩基配列）などをあげることができる。

【0045】

該心筋形成剤には心筋誘導因子の遺伝子を主成分とするものと、心筋誘導因子

の本体である蛋白質を含むものがある。

(1) 遺伝子を主成分とする心筋形成剤

以下に本発明の心筋形成剤が心筋誘導因子をコードする遺伝子を主成分とする場合の調製法について述べる。

【0046】

まず、心筋誘導因子の遺伝子DNA断片、あるいは全長cDNAをウイルスベクタープラスミド内のプロモーターの下流に挿入することにより、組換えウイルスベクタープラスミドを造成する。

該組換えウイルスベクタープラスミドを、該ウイルスベクタープラスミドに適合したパッケージング細胞に導入する。

【0047】

パッケージング細胞としては、ウイルスのパッケージングに必要なタンパク質をコードする遺伝子のいずれかを欠損している組換えウイルスベクタープラスミドの該欠損する蛋白質を補給できる細胞であればいかなるものも用いることができる。例えばヒト腎臓由来のHEK293細胞、マウス繊維芽細胞NIH3T3などを用いることができる。

【0048】

パッケージング細胞で補給する蛋白質としては、レトロウイルスベクターの場合はマウスレトロウイルス由来のgag、pol、envなどの蛋白質が、レンチウイルスベクターの場合はHIVウイルス由来のgag、pol、env、vpr、vpu、vif、tat、rev、nefなどの蛋白質、アデノウイルスベクターの場合はアデノウイルス由来のE1A・E1Bなどの蛋白質が、アデノ随伴ウイルスの場合はRep(p5,p19,p40)、Vp(Cap)などの蛋白質を用いることができる。

【0049】

ウイルスベクタープラスミドとしては上記パッケージング細胞において組換えウイルスが生産でき、野生型の心臓先天性遺伝子疾患の原因遺伝子を心筋細胞で転写できる位置にプロモーターを含有しているものが用いられる。

ウイルスベクタープラスミドとしてはMFG [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 6733-6737, 1995]、pBabePuro [Nucleic Acids Research, 18, 3587-3596, 1990]

, LL-CG、CL-CG、CS-CG、CLG [Journal of Virology, 72, 8150-8157(1998)]、pA dex1 [Nucleic Acids Res., 23, 3816-3821,(1995)]等が用いられる。

【0050】

プロモーターとしては、ヒト組織中で発現できるものであればいずれも用いることができ、例えば、サイトメガロウイルス（ヒトCMV）のIE(immediate early)遺伝子のプロモーター、SV40の初期プロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショック蛋白質プロモーター、SR α プロモーター等をあげることができる。また、ヒトCMVのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。また、Nkx2.5遺伝子のような心筋特異的な遺伝子のプロモーターを用いることで、心筋細胞で特異的に目的の遺伝子を発現させることができる。

【0051】

上記組換えウイルスベクタープラスミドを上記パッケージング細胞に導入することで組換えウイルスベクターを生産することができる。上記パッケージング細胞への上記ウイルスベクタープラスミドの導入法としては、例えば、リン酸カルシウム法 [特開平2-227075]、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci. U SA, 84, 7413 (1987)]等をあげることができる。

【0052】

上述した組換えウイルスベクターは、遺伝子治療剤に用いる基剤と共に調合して治療剤を製造することができる [Nature Genet., 8, 42(1994)]。遺伝子治療剤に用いる基剤としては、通常注射剤に用いる基剤であればいかなるものでも用いることができる。例えば、蒸留水、塩化ナトリウム又は塩化ナトリウムと無機塩との混合物等の塩溶液、マンニトール、ラクトール、デキストラン、グルコース等の溶液、グリシン、アルギニン等のアミノ酸溶液、有機酸溶液又は塩溶液とグルコース溶液との混合溶液等があげられる。また常法に従い、これらの基剤に浸透圧調整剤、pH調整剤、ゴマ油、ダイズ油等の植物油又はレシチンもしくは非イオン界面活性剤等の界面活性剤等の助剤を用いて、溶液、懸濁液、分散液と共に注射剤を調製してもよい。これらの注射剤を、粉末化、凍結乾燥等の操作により用時溶解用製剤として調製することもできる。上記の心筋形成剤は、遺伝子治療の

直前に液体の場合はそのまま、固体の場合は必要により滅菌処理をした上記の基剤に溶解して治療に使用することができる。本発明の心筋形成剤の投与方法は、患者の治療部位の心筋に吸収されるように、カテーテル等を用いて局所的に投与する方法等が用いられる。

上述した組換えウイルスベクターは試験管内で該心筋形成能を有する骨髓細胞に感染させた後、上述した細胞治療剤として調製し、患者に投与することができる。または、組換えウイルスベクターを患者の患部に直接投与することもできる。

(2) 蛋白質を主成分とする心筋形成剤

以下に本発明の心筋形成剤が蛋白質を主成分とする場合の調製法について述べる。

【0053】

心筋誘導因子の完全長cDNAをもとに、必要に応じて、該蛋白質をコードする部分を含む適当な長さのDNA断片を調製する。

該DNA断片、あるいは完全長cDNAを発現ベクター内のプロモーターの下流に挿入することにより、該蛋白質の発現プラスミドを造成する。

該発現プラスミドを、該発現ベクターに適合した宿主細胞内に導入する。

【0054】

宿主細胞としては、目的とするDNAを発現できるものは全て用いることができ、例えば、エシェリヒア (Escherichia) 属、セラチア (Serratia) 属、コリネバクテリウム (Corynebacterium) 属、ブレヴィバクテリウム (Brevibacterium) 属、シュードモナス (Pseudomonas) 属、バチルス (Bacillus) 属、ミクロバクテリウム (Microbacterium) 属等に属する細菌、クルイベロミセス (Kluyveromyces) 属、サッカロマイセス (Saccharomyces) 属、シゾサッカロマイセス (Shizosaccharomyces) 属、トリコスポロン (Trichosporon) 属、シワニオミセス (Schwannomyces) 属等に属する酵母や動物細胞、昆虫細胞等を用いることができる。

【0055】

発現ベクターとしては、上記宿主細胞において自立複製可能なものは染色体中への組込みが可能で、心筋誘導因子の遺伝子DNAを転写できる位置にプロモータ

ーを含有しているものが用いられる。

細菌等を宿主細胞として用いる場合は、心筋誘導因子の遺伝子DNA発現ベクターは該細菌中で自立複製可能であると同時に、プロモーター、リボソーム結合配列、心筋形成能のあるDNAおよび転写終結配列より構成された組換えベクターであることが好ましい。プロモーターを制御する遺伝子が含まれていてもよい。

【0056】

発現ベクターとしては、例えば、pBTrp2、pBTac1、pBTac2（いずれもベーリンガーマンハイム社より市販）、pKK233-2（Amersham Pharmacia Biotech社製）、pSE280（Invitrogen社製）、pGEMEX-1（Promega社製）、pQE-8（QIAGEN社製）、pKYP10〔特開昭58-110600〕、pKYP200〔Agricultural Biological Chemistry, 48, 669 (1984)〕、pLSA1〔Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989)〕、pGEL1〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4306 (1985)〕、pBluescript II SK(-)（Stratagene社製）、pGEX（Amersham Pharmacia Biotech社製）、pET-3（Novagen社製）、pTerm2(USP4686191、USP4939094、USP5160735)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pEG400〔J. Bacteriol., 172, 2392 (1990)〕等を例示することができる。

【0057】

プロモーターとしては、宿主細胞中で発現できるものであればいかなるものでもよい。例えば、trpプロモーター（P trp）、lacプロモーター（P lac）、PLプロモーター、PRプロモーター、T7プロモーター等の大腸菌やファージ等に由来するプロモーター、SP01プロモーター、SP02プロモーター、penPプロモーター等をあげることができる。またP trpを2つ直列させたプロモーター（P trp x 2）、tacプロモーター、letIプロモーター〔Gene, 44, 29 (1986)〕、lacT7プロモーターのように人為的に設計改変されたプロモーター等も用いることができる。

【0058】

リボソーム結合配列としては、宿主細胞中で発現できるものであればいかなるものでもよいが、シャイン-ダルガノ（Shine-Dalgarno）配列と開始コドンとの間を適当な距離（例えば6～18塩基）に調節したプラスミドを用いることが好ましい。

本発明の心筋誘導因子の遺伝子DNAの蛋白質をコードする部分の塩基配列を、宿主の発現に最適なコドンとなるように、塩基を置換することにより、目的とする蛋白質の生産率を向上させることができる。

【0059】

本発明の心筋誘導因子の遺伝子DNAの発現には転写終結配列は必ずしも必要ではないが、好適には構造遺伝子直下に転写終結配列を配置することが望ましい。

宿主細胞としては、エシェリヒア属、セラチア属、コリネバクテリウム属、ブレヴィバクテリウム属、シュードモナス属、バチルス属等に属する微生物、例えば、Escherichia coli XL1-Blue、Escherichia coli XL2-Blue、Escherichia coli DH1、Escherichia coli MC1000、Escherichia coli KY3276、Escherichia coli W1485、Escherichia coli JM109、Escherichia coli HB101、Escherichia coli No.49、Escherichia coli W3110、Escherichia coli NY49、Bacillus subtilis、Bacillus amyloliquefaciens、Brevibacterium ammoniagenes、Brevibacterium immariophilum ATCC14068、Brevibacterium saccharolyticum ATCC14066、Corynebacterium glutamicum ATCC13032、Corynebacterium glutamicum ATCC14067、Corynebacterium glutamicum ATCC13869、Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870、Microbacterium ammoniaphilum ATCC15354、Pseudomonas sp. D-0110等をあげることができる。

【0060】

組換えベクターの導入方法としては、上記宿主細胞へDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、カルシウムイオンを用いる方法〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 2110 (1972)〕、プロトプラスト法〔特開昭63-248394、またはGene, 17, 107 (1982)やMolecular & General Genetics, 168, 111 (1979)〕に記載の方法等をあげることができる。

【0061】

酵母を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、YEpl3 (ATCC37115)、YEpl24 (ATCC37051)、YCp50 (ATCC37419)、pHS19、pHS15等を例示することができる。

プロモーターとしては、酵母中で発現できるものであればいかなるものでもよ

く、例えば、PH05プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーター、gal 1プロモーター、gal 10プロモーター、ヒートショック蛋白質プロモーター、MF α 1プロモーター、CUP 1プロモーター等をあげることができる。

【0062】

宿主細胞としては、サッカロミセス・セレビスエ (Saccharomyces cerevisiae)、シゾサッカロミセス・ポンベ (Schizosaccharomyces pombe)、クリュイベロミセス・ラクチス (Kluyveromyces lactis)、トリコスポロン・プルランス (Trichosporon pullulans)、シュワニオミセス・アルビウス (Schwanniomyces alluvius)等をあげることができる。

【0063】

組換えベクターの導入方法としては、酵母にDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Methods. Enzymol., 194, 182 (1990)]、スフェロプラスト法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978)]、酢酸リチウム法 [J. Bacteriol., 153, 163 (1983), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978)]に記載の方法等をあげることができる。

【0064】

動物細胞を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、pcDNA1、pcDM8 (フナコシ社製)、pAGE107 [特開平3-22979; Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、pAS3-3 (特開平2-227075)、pCDM8 [Nature, 329, 840 (1987)]、pcDNA1/Amp (Invitrogen社製)、pREP4 (Invitrogen社製)、pAGE103 [J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、pAGE210等を例示することができる。

【0065】

プロモーターとしては、動物細胞中で発現できるものであればいずれも用いることができ、例えば、サイトメガロウイルス (ヒトCMV) のIE(immediate early) 遺伝子のプロモーター、SV40の初期プロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショック蛋白質プロモーター、SR α プロモーター等をあげることができる。また、ヒトCMVのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。

【0066】

宿主細胞としては、ヒトの細胞であるナマルバ (Namalwa) 細胞、サルの細胞であるCOS細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞であるCHO細胞、HBT5637 [特開昭63-299] 等をあげることができる。

動物細胞への組換えベクターの導入法としては、動物細胞にDNAを導入できるいかなる方法も用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、リン酸カルシウム法 (特開平2-227075)、リポフェクション法 [Proc.Natl.Acad.Sci.,USA, 84, 7413 (1987)、Virology, 52, 456 (1973)] に記載の方法等を用いることができる。形質転換体の取得および培養は、特開平2-227075号公報あるいは特開平2-257891号公報に記載されている方法に準じて行なうことができる。

【 0 0 6 7 】

昆虫細胞を宿主として用いる場合には、例えばバキュロウイルス・エクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリー・マニュアル (Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual)、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー サプリメント1-3 8 (1987-1997)、Bio/Technology, 6, 47 (1988)等に記載された方法によって、蛋白質を発現することができる。

【 0 0 6 8 】

即ち、組換え遺伝子導入ベクターおよびバキュロウイルスを昆虫細胞に共導入して昆虫細胞培養上清中に組換えウイルスを得た後、さらに組換えウイルスを昆虫細胞に感染させ、蛋白質を発現させることができる。

該方法において用いられる遺伝子導入ベクターとしては、例えば、pVL1392、pVL1393、pBlueBacIII (ともにInvitrogen社製) 等をあげることができる。

【 0 0 6 9 】

バキュロウイルスとしては、例えば、夜盗蛾科昆虫に感染するウイルスであるアウトグラフィア・カリフォルニカ・ヌクレアー・ポリヘドロシス・ウイルス (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus) 等を用いることができる。

昆虫細胞としては、Spodoptera frugiperdaの卵巣細胞であるSf9、Sf21 [Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual, W.H.Freeman and Company, New York, (1992)]、Trichoplusia niの卵巣細胞であるHigh 5 (Invitrogen

社製)等を用いることができる。

【0070】

組換えウイルスを調製するための、昆虫細胞への上記組換え遺伝子導入ベクターと上記バキュロウイルスの共導入方法としては、例えば、リン酸カルシウム法〔特開平2-227075〕、リポフェクション法〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)〕等をあげることができる。

遺伝子の発現方法としては、直接発現以外に、モレキュラー・クローニング第2版に記載されている方法等に準じて、分泌生産、融合蛋白質発現等を行うことができる。

【0071】

酵母、動物細胞または昆虫細胞により発現させた場合には、糖あるいは糖鎖が付加された蛋白質を得ることができる。

心筋形成能のあるDNAを組み込んだ組換え体DNAを保有する形質転換体を培地に培養し、培養物中に心筋形成能のある蛋白質を生成蓄積させ、該培養物より該蛋白質を採取することにより、心筋形成能のある蛋白質を製造することができる。

【0072】

本発明の心筋形成能のある蛋白質製造用の形質転換体を培地に培養する方法は、宿主の培養に用いられる通常の方法に従って行うことができる。

上記形質転換体が大腸菌等の原核生物、酵母等の真核生物である場合、これら微生物を培養する培地は、該微生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含み、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれでもよい。

【0073】

炭素源としては、それぞれの微生物が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含む糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノールなどのアルコール類を用いることができる。

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の各種無機酸若しくは有機酸のアンモニウム

塩、その他含窒素化合物、並びに、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンスチープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体およびその消化物等が用いられる。

【0074】

無機物としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。

培養は、振盪培養または深部通気攪拌培養などの好氣的条件下で行う。培養温度は15～40℃がよく、培養時間は、通常16時間～7日間である。培養中pHは、3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機あるいは有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニアなどを用いて行う。

【0075】

また培養中必要に応じて、アンピシリンやテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lacプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド (IPTG) 等を、trpプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸 (IAA) 等を培地に添加してもよい。

【0076】

動物細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているRPMI1640培地 [The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967)]、EagleのMEM培地 [Science, 122, 501 (1952)]、ダルベッコ改変MEM培地 [Virology, 8, 396 (1959)]、199培地 [Proceeding of the Society for the Biological Medicine, 73, 1 (1950)] またはこれら培地に牛胎児血清等を添加した培地等を用いることができる。

【0077】

培養は、通常pH6～8、30～40℃、5%CO₂存在下等の条件下で1～7日間行う。

また、培養中必要に応じて、カナマイシン、ペニシリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

昆虫細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているTNM-FH培地（Pharmingen社製）、Sf-900 II SFM培地（Life Technologies社製）、ExCell400、ExCell405（いずれもJRH Biosciences社製）、Grace's Insect Medium [Grace, T.C.C., Nature, 195, 788 (1962)] 等を用いることができる。

【0078】

培養は、通常pH6～7、25～30℃等の条件下で、1～5日間行う。

また、培養中必要に応じて、ゲンタマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

上述の形質転換体の培養物から、本発明の心臓疾患に関連する蛋白質を単離精製するには、通常酵素の単離、精製法を用いればよい。

【0079】

例えば、本発明の心筋形成能のある蛋白質が、細胞内に溶解状態で発現した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離により回収し水系緩衝液にけん濁後、超音波破碎機、フレンチプレス、マントンガウリンホモゲナイザー、ダイノミル等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。該無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、通常酵素の単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル（DEAE）セファロース、DIAION HPA-75（三菱化学社製）等レジンを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF（Amersham Pharmacia Biotech社製）等のレジンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、精製標品を得ることができる。

【0080】

また、該蛋白質が細胞内に不溶体を形成して発現した場合は、細胞を回収後破

砕し、遠心分離することにより、沈殿画分として蛋白質の不溶体を回収する。

回収した該蛋白質の不溶体を蛋白質変性剤で可溶化する。

該可溶化液を、希釈あるいは透析により、該可溶化液中の蛋白質変性剤の濃度を下げることに、該蛋白質の構造を正常な立体構造に戻した後、上記と同様の単離精製法により該蛋白質の精製標品を得る。

【0081】

本発明の心筋形成能のある蛋白質あるいはその糖修飾体等の誘導体が細胞外に分泌された場合には、培養上清から、該蛋白質あるいはその糖鎖付加体等の誘導体を回収することができる。即ち、培養物から遠心分離等の手法により培養上清を回収し、該培養上清から、上記と同様の単離精製法を用いることにより、精製標品を得ることができる。

【0082】

このようにして取得される蛋白質として、例えば、配列番号5、6、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30で表されるアミノ酸配列を有する蛋白質等をあげることができる。

また、上記方法により発現させた蛋白質を、Fmoc法(フルオレニルメチルオキシカルボニル法)、tBoc法(t-ブチルオキシカルボニル法)等の化学合成法によっても製造することができる。また、桑和貿易(米国Advanced ChemTech)社製、Perkin-Elmer社製、Amersham Pharmacia Biotech社製、アロカ(米国Protein Technology Instrument)社製、クラボウ(米国Synthecell-Vega)社製、日本パーセプティブ・リミテッド(米国PerSeptive)社製、島津製作所等のペプチド合成機を利用して合成することもできる。

【0083】

7. 先天性遺伝子疾患の治療への利用

心不全を来す疾患の中には、一部であるが単一遺伝子の変異により、本来必要な蛋白質が全て欠損するために心不全を来す一群がある。このような疾患としては、家族性肥大型心筋症、Fabri病、QT延長症候群、マルファン症候群、大動脈弁狭窄症、ミトコンドリア心筋症、Duchenne型筋ジストロフィー症等があげられる。これらの疾患は、ミオシン、トロポニン、トロポミオシン、電位依存性Naチ

チャンネル、Kチャンネル、フィブリン、エラスティン、ミトコンドリア、ジストロフィンなどの遺伝子異常が原因であることが知られている〔治療学, 30, 1302-1306(1996)〕。すなわち、これら患者より本発明の心筋形成能を有する骨髓細胞を取得し、正常な遺伝子を導入して心臓に移植することで上記疾患を治療することができる。正常な遺伝子は、遺伝子を主成分とする心筋形成剤の項目で記載した遺伝子治療用のベクターを用いることで本発明の心筋形成能を有する骨髓細胞に導入することができる。

【0084】

8. 心筋形成能を有する骨髓細胞特異的な表面抗原および該抗原を認識する抗体の取得法

以下に、本発明の心筋形成能を有する骨髓細胞で発現している表面抗原を特異的に認識する抗体の調製法について述べる。

本発明の該心筋形成能を有する骨髓細胞で特異的に発現している表面抗原を認識する抗体は、心筋梗塞などの心臓病の細胞治療を実施する上で必要な該心筋形成能を有する骨髓細胞の純度検定や精製に用いることができる。

【0085】

該抗体を取得する方法として、本発明の該心筋形成能を有する骨髓細胞 $3 \sim 5 \times 10^5$ cells/匹、あるいは該細胞から調製した細胞膜画分 $1 \sim 10$ mg/匹程を抗原として、ウサギ、ヤギまたは $3 \sim 20$ 週令のラット、マウスもしくはハムスターの皮下、静脈内または腹腔内に、適当なアジュバント〔例えば、フロインドの完全アジュバント(Complete Freund's Adjuvant)または、水酸化アルミニウムゲル、百日咳菌ワクチンなど〕とともに投与する。

【0086】

該抗原の投与は、1回目の投与の後 $1 \sim 2$ 週間おきに $3 \sim 10$ 回行う。各投与後、 $3 \sim 7$ 日目に眼底静脈叢より採血し、該血清が免疫に用いた抗原と反応することを酵素免疫測定法〔酵素免疫測定法(ELISA法)：医学書院刊 1976年、Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988〕などで確認する。

【0087】

免疫に用いた抗原に対し、その血清が十分な抗体価を示した非ヒトほ乳動物を、血清または抗体産生細胞の供給源とする。

ポリクローナル抗体は、該血清を分離、精製することにより調製することができる。

モノクローナル抗体は、該抗体産生細胞と非ヒトほ乳動物由来の骨髓腫細胞とを融合させてハイブリドーマを作製し、該ハイブリドーマを培養するか、動物に投与して該動物を腹水癌化させ、該培養液または腹水を分離、精製することにより調製することができる。

【 0 0 8 8 】

抗体産生細胞としては、脾細胞、リンパ節、末梢血中の抗体産生細胞、特に脾細胞が好適に用いられる。

骨髓腫細胞としては、8-アザグアニン耐性マウス (BALB/c 由来) 骨髓腫細胞株である P3-X63Ag8-U1 (P3-U1) 株 [Current Topics in Microbiology and Immunology, 18, 1 (1978)]、P3-NS1/1-Ag41 (NS-1) 株 [European J. Immunology, 6, 511 (1976)]、SP2/0-Ag14 (SP-2) 株 [Nature, 276, 269 (1978)]、P3-X63-Ag8653 (653) 株 [J. Immunology, 123, 1548 (1979)]、P3-X63-Ag8 (X63) 株 [Nature, 256, 495 (1975)] 等、マウス由来の株化細胞が好適に用いられる。

【 0 0 8 9 】

ハイブリドーマ細胞は、以下の方法により作製できる。

抗体産生細胞と骨髓腫細胞を混合し、HAT 培地 (正常培地にヒポキサンチン、チミジンおよびアミノプテリンを加えた培地) に懸濁したのち、7~14 日間培養する。培養後、培養上清の一部をとり酵素免疫測定法などにより、抗原に反応し、抗原を含まない蛋白質には反応しないものを選択する。ついで、限界希釈法によりクローニングを行い、酵素免疫測定法により安定して高い抗体価の認められたものをモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞として選択する。

【 0 0 9 0 】

ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を分離、精製する方法としては、遠心分離、硫酸沈殿、カプリル酸沈殿、または DEAE-セファロースカラム、陰イオン交換カラム、プロテイン A または G-カラムあるいはゲル濾過カラム等を用

いるクロマトグラフィー等を、単独または組み合わせて処理する方法があげられる。

上記方法で取得した、該心筋形成能を有する骨髄細胞で発現している表面抗原を特異的に認識する抗体は、造血系幹細胞、神経系幹細胞などの対照となる細胞に対する反応性を比較することで、検体である細胞が上記特異的表面抗原を発現しているかどうかを容易に選別することができる。

【0091】

8. 心筋形成能を有する骨髄細胞で発現している表面抗原および該表面抗原をコードする遺伝子の取得方法

該心筋形成能を有する骨髄細胞で特異的に発現している表面抗原遺伝子の取得方法としては、二つの異なる由来のサンプル間で異なる発現形態を取る遺伝子を取得する方法であるサブトラクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5738-5742 (1988)] や Representational difference analysis [Nucleic Acids Research, 22, 5640-5648, (1994)] による方法をあげることができる。

【0092】

まず、心筋形成能を有する骨髄細胞より作製したcDNAライブラリーを、造血系幹細胞や神経系幹細胞などの骨髄細胞以外の対照細胞より取得したmRNAを用いてサブトラクションを行う。心筋形成能を有する骨髄細胞特異的な遺伝子を濃縮した差分cDNAライブラリーを調製した後、該差分cDNAライブラリーの挿入cDNA配列を5'側よりランダムに塩基配列解析を行い、分泌シグナル配列を持つものだけを選択する。このようにして得られたcDNAの全長塩基配列を決定することにより、該cDNAがコードする蛋白質が分泌蛋白質か膜蛋白質かを区別することができる。

【0093】

上記の方法において、ランダム配列解析の代わりに、シグナルシーケンスストップ法も用いることもできる [Science, 261, 600-603 (1993); Nature Biotechnology, 17, 487-490 (1999)]。シグナルシーケンスストップ法とは、分泌シグナル配列をもつ遺伝子を選択的にスクリーニングする方法である。

効率よく特異的な表面抗原を取得するためには、シグナルシーケンストラップ

ライブラリーをサブトラクションが行えるベクターを用いて作製し、心筋形成能を有する骨髄細胞から作製したシグナルシーケンスストラップライブラリーを造血系幹細胞や神経系幹細胞などの対照となる細胞より取得した mRNA を用いてサブトラクションを行う方法が望ましい。このようにして取得された分泌シグナル配列を含む DNA 断片は全長 cDNA をクローン化するためのプローブとして用いることができる。

【0094】

全長 cDNA はその全長塩基配列を解析することで、該 cDNA がコードする蛋白質が分泌蛋白質か膜蛋白質かを区別することができる。

ランダム配列解析あるいはシグナルシーケンスストラップ法を用いた場合でも、得られたクローンが膜蛋白質である場合は、塩基配列から類推されるアミノ酸配列に基づき合成ペプチドを作製し、該合成ペプチドを抗原として上記方法により特異的な抗体を取得することができる。

【0095】

また、膜蛋白質の場合は、受容体をコードしているものがあり、このような受容体は該心筋形成能を有する骨髄細胞の特異的な増殖または心筋への分化の調節に働いている可能性があり、当該受容体のリガンドの探索に用いることができる。分泌蛋白質の場合は、直接心筋形成能を有する骨髄細胞を増殖あるいは分化させるために用いることができる。

【0096】

9. 心筋形成能のある骨髄細胞の増殖因子および心筋への分化誘導因子をスクリーニングする方法

心筋形成能のある骨髄細胞の増殖因子および心筋への分化誘導因子のスクリーニング方法としては、心筋形成能を有する骨髄細胞を無血清培地中で培養させる際に、検体である種々の物質を添加させ、該細胞が増殖するか、または心筋へ分化誘導されるかで調べることにより行うことができる。

【0097】

検体となる物質としては、各種サイトカインや増殖因子などの分泌蛋白質、細胞接着分子などの膜結合蛋白質、組織抽出液、合成ペプチド、合成化合物、微生物

物培養液等などいかなるものでもよい。

増殖能力はコロニー形成能やBrdUの取り込みなどで調べることができる。

コロニー形成能は、本発明の骨髄細胞を低密度で播種することにより調べることができる。

【0098】

BrdUの取り込みは、BrdUを特異的に認識する抗体を用いた免疫染色により調べることができる。

心筋への分化を評価する方法としては、自律拍動を指標にするかまたは筋細胞で特異的に発現する遺伝子のプロモーターとGFP(Green fluorescent protein)、ルシフェラーゼ、ベクターガラクトシダーゼなどのレポーター遺伝子とを組み合わせたベクターDNAを該心筋形成能を有する骨髄細胞に導入したレポーター細胞を用いてレポーター遺伝子の発現を指標にする方法があげられる。

レポーター系の構築にはcardiac troponin I(cTNI)のプロモーターを用いる方法があげられる[J. Biological Chemistry, 273, 25371-25380 (1998)]。

【0099】

10. 心筋形成能のある骨髄細胞を不死化する方法

心臓疾患の患者、特に高齢者に本発明の治療薬を投与する場合、本発明の心筋形成能を有する骨髄細胞をガン化させずに細胞分裂の回数を賦活させることが望ましい。

【0100】

骨髄細胞をガン化させずに細胞分裂の回数を賦活させる方法としては、テロメラーゼを本発明の心筋形成能を有する骨髄幹細胞に発現させる方法をあげることができる。

例えば、テロメラーゼの触媒サブユニットであるTERT遺伝子、具体的には配列番号32で表されるDNAを、レトロウイルスベクターに導入した後に心筋形成能を有する骨髄幹細胞に導入する方法、または心筋形成能を有する骨髄細胞に内在するTERT遺伝子を誘導発現させる因子を心筋形成能を有する骨髄細胞に投与する方法、あるいはTERT遺伝子を誘導発現させる因子をコードするDNAを含むベクターを心筋形成能を有する骨髄細胞に導入する方法などをあげることができる。

【0101】

このようなTERT遺伝子を誘導発現させる因子は、心筋形成能を有する骨髄細胞にTERT遺伝子プロモーターとGFP(Green Fluorescent protein)、ルシフェラーゼ、あるいはベクターガラクトシダーゼを組み合わせたレポーター系を心筋形成能を有する骨髄細胞に導入することで選別することができる。

以下に実施例をあげて、本発明を具体的に示す。

【0102】

【実施例】

実施例 1. マウス骨髄からの心筋分化能を有する骨髄細胞の取得と培養

5週齢のC3H/Heマウス10匹をエーテルを用いて麻酔し、そのうえで頸椎脱臼により致死させた。マウスを半側臥位にして、70%エタノールを充分かけ消毒した。次に大腿骨周辺の皮膚を広い範囲にわたり切開し、大腿骨全面の大腿四頭筋をはさみで切除した。膝関節の部分に軽くはさみを入れ、関節を外し、さらに大腿骨背面の筋肉を切除した。また関節の部分にはさみを入れ関節を外し、大腿骨を取り出した。大腿骨に付着している筋肉をはさみで切除し、大腿骨全体を露出させた。大腿骨の両端をはさみで切断後、テルモ製23Gの針を装着した2.5ml注射器に20%FCSを含有するIMDM培地を約1.5ml入れ、注射針の先端を大腿骨の膝関節側の断端に差し込み、試験管の中に培養液を吹き出すことで、骨髄細胞を押し出した。取得した細胞は、20%FCS、100mg/ml penicillin、250ng/ml streptomycin、85 mg/ml amphotericinを含有するIMDM培地中で33Cで、5% CO₂濃度の孵卵機を用いて培養を行った。継代を続けることで、細胞は間葉系の細胞へと均一化し、造血系の細胞は消失した。

【0103】

約4ヶ月上記条件で培養を行い、不死化した細胞を選択した後、希釈により192種類の独立した単一細胞(single cell)由来の細胞株を樹立した(以下、骨髄由来初代不死化細胞株と称する)。これら独立のクローン由来の細胞にそれぞれに3mMの終濃度になるように5-aza-Cを24時間添加した後、さらに2週間培養することで拍動する細胞を産生するクローンを選択した。骨髄由来初代不死化細胞192個のうち、心筋形成能を有する骨髄幹細胞は3個であった。該心筋形成能を有

する骨髓細胞は、心筋細胞以外に脂肪細胞を分化誘導したことからいずれも多分化能幹細胞であることが示された。多分化能幹細胞から、非特異的に分化誘導してくる自己拍動細胞の割合は非常に少ない。

しかし、この自己拍動する細胞周辺をクローニングシリンジで採取し、培養した細胞（以下、単に心筋前駆細胞と称する）に、再び5-aza-Cを24時間添加し、さらに2～3週間培養することでより多くの自律拍動する細胞を取得した。該心筋形成能を有する骨髓幹細胞は、増殖条件下では、単核の線維芽細胞様の形態を呈し、心筋収縮蛋白質はほとんど発現していない。しかし5-aza-Cにより最終分化を誘導すると形態は著しく変化した。

【0104】

分化誘導1週間目頃より、一部の細胞は細胞質が大きくなり円形あるいは棒状を呈し、後に自律拍動を開始する細胞となるが、この時点では自律拍動を行うことは少なかった。分化誘導後2週間になると、自己拍動を開始した。この自己拍動した細胞は互いに連結しあい、縦に連結して筋管細胞様となった。3週間以後には多くの細胞が縦に1列にならび、同期して収縮した。分化後4週間以後には培養皿の上の直接連結される細胞は、すべて同期して収縮し心筋組織様になった。マウスの心臓は、毎分300～400回程度の心拍数で収縮するが、これに対してマウス成体骨髓由来の細胞より分化した心筋は、培養条件下において毎分120～250回の速さで規則的に収縮した。

【0105】

実施例2. マウス骨髓細胞から誘導される心筋の特性

骨髓由来細胞から形成される自律拍動する心筋様細胞が、実際に心筋細胞の性質を保有しているかどうかの解析を行った。

実施例1で取得した、骨髓由来初代不死化細胞株、多分化能幹細胞および心筋前駆細胞から分化誘導した心筋細胞から、それぞれTrizol Reagents(GIBCO BRL社製)を用いて全RNAを取得した。次に、該全RNAを基質としてSuperscriptII reverse transcriptase(GIBCO BRL社製)を用いてFirst strand cDNAを合成した。

【0106】

次に、心筋特異的な遺伝子の発現を検討するために、該First strand cDNAを

基質として、配列番号 3 3 ~ 5 8 に示した塩基配列を有する合成DNAを用いて定量的PCRを行った。心筋特異的な遺伝子としては、ナトリウム利尿ペプチドである ANP および BNP、ミオシン重鎖である α -MHC および β -MHC、アクチンである α -skeletal actin および β -skeletal actin、ミオシン軽鎖である MLC-2a、MLC-2v、心筋特異的転写因子である Nkx2.5/Csx、GATA4、TEF-1、MEF-2C、MEF-2D を用いた。

【0 1 0 7】

ANP の増幅には配列番号 3 3、3 4 の塩基配列を有する合成DNAを、BNP の増幅には配列番号 3 5、3 6 の塩基配列を有する合成DNAを、 α -MHC の増幅には配列番号 3 7、3 8 の塩基配列を有する合成DNAを、 β -MHC の増幅には配列番号 3 9、4 0 の塩基配列を有する合成DNAを、 α -skeletal actin の増幅には配列番号 4 1、4 2 の塩基配列を有する合成DNAを、 β -skeletal actin の増幅には配列番号 4 3、4 4 の塩基配列を有する合成DNAを、MLC-2a の増幅には配列番号 4 5、4 6 の塩基配列を有する合成DNAを、MLC-2v の増幅には配列番号 4 7、4 8 の塩基配列を有する合成DNAを、Nkx2.5/Csx の増幅には配列番号 4 9、5 0 の塩基配列を有する合成DNAを、GATA4 の増幅には配列番号 5 1、5 2 の塩基配列を有する合成DNAを、TEF-1 の増幅には配列番号 5 3、5 4 の塩基配列を有する合成DNAを、MEF-2C の増幅には配列番号 5 5、5 6 の塩基配列を有する合成DNAを、MEF-2D の増幅には配列番号 5 7、5 8 の塩基配列を有する合成DNAを用いた。

【0 1 0 8】

生体内で分化誘導する心筋細胞は、心筋収縮の心拍数またはエネルギー効率に違いを持たせるために、胎仔期、新性仔期あるいは成熟期によって、または心房筋あるいは心室筋の相違によって、心筋収縮蛋白質のアイソフォームに違いがある。

培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞の場合、アイソフォームの発現様式は α -アクチンの場合は骨格筋型のほうが心筋型より多く発現し、ミオシンの場合は β 型のほうが α 型よりも多く発現していた。ミオシン軽鎖では 2 v 型が発現しているのに対し、2 a 型の発現は観察されなかった。

【0 1 0 9】

また、培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞の分化誘導後には、ナトリウム利尿ペプチドであるANPおよびBNPの発現が見られた。以上の心筋収縮蛋白質の発現様式より判断すると、培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞の表現型は胎仔型心室筋細胞の形質を有すると考えられる。

培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞では、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2C、MEF-2D、TEF-1遺伝子の発現が観察された。増殖中の骨髄由来初代不死化細胞株ではこれらの転写因子の発現は認められなかったが、増殖中の骨髄由来心筋前駆細胞ではNkx2.5/Csx、GATA4およびMEF-2Cの発現が観察され、心筋への分化誘導に伴い、遅れてMEF-2AおよびMEF-2Dの発現誘導が観察された。

【0 1 1 0】

次に、ガラス微少電極により、培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞の活動電位を記録した。活動電位は、細胞を1.49mM CaCl₂、4.23mM KCl、25mM HEPES(pH7.4)を添加したIMDM培地中で培養し、Diaphoto-300実体顕微鏡(ニコン社製)下、温度25℃で測定した。ガラス電極は電極抵抗を15～30Ωに設定して3M KClを充填した。膜電位の測定はMEZ-8300(日本光電社製)を用いて電流クランプモードで行った。測定結果はRTA-1100M(日本光電社製)を用いて熱感紙に記録した。その結果、培養系で心筋細胞に分化した骨髄細胞は、洞結節細胞型と心室筋細胞型の2種類が観察された。両者に共通する活動電位の特徴は、①活動電位持続時間が長いこと、②比較的浅い静止期電位を持つこと、③ペースメーカー細胞にみられる静止期電位の緩やかな脱分極が認められることであった。また、心室筋細胞型では活動電位はPeak&Dome型(活動電位第1相を持つ)を呈した。洞結節細胞型の活動電位持続時間、拡張期膜電位、活動電位振幅は従来ウサギやラットで報告されている洞結節の活動電位と近似していた。心室筋細胞型ではこれに比べて、静止期膜電位は深く、活動電位振幅は大きい傾向を示した。分化誘導後、2～3週間の細胞はすべて洞結節細胞型が記録されたが、分化誘導後4週間頃より心室筋細胞型が観察され時間経過とともに次第に増加した。

【0 1 1 1】

実施例 3. サイトカインを用いた心筋細胞分化の促進

心筋形成能を有するマウス骨髄細胞の心筋分化誘導率を増加させるため、5-az

a-Cで分化誘導をおこなう際に、各種サイトカインを添加して誘導率が増加するかどうか解析をおこなった。

心筋形成能を有するマウス骨髄細胞を 2×10^4 細胞/mlとなるように60mm 培養ディッシュあるいは60mm フィブロネクチン付着ディッシュ(fibronectin-coated dish:Becton Dickinson社製)に蒔き、33℃、5%CO₂濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

【0112】

翌日、該培養液に5-aza-Cを終濃度3 μ Mとなるよう添加した上で、更に、PDGFのみ、PDGFとレチノイン酸の両方、添加なし、の3種類の群で培地中に添加した(終濃度はPDGFは10ng/ml、レチノイン酸は 10^{-9} M)。

それから更に2日後、4日後にも培地交換した後、PDGFのみ、PDGFとレチノイン酸の両方、添加なしの3群にそれぞれ最初と同量を添加した。

【0113】

薬剤を加えてから4週間後、細胞の形態を位相差顕微鏡下で観察した。その結果、5-aza-Cのみを添加した培養ディッシュでは約3割の細胞が筋管細胞様となるのに対し、PDGFを添加すると約4割、PDGFとレチノイン酸を同時に添加すると約5割の細胞が筋管細胞様となった。また、フィブロネクチン付着ディッシュの3群では、培養ディッシュの3群に比べて、筋管細胞様になる細胞数が約1割程度ずつ増加した。

【0114】

実施例4. DMSOを用いた骨髄由来幹細胞からの心筋への分化誘導

実施例1に示した方法により、取得した心筋形成能のある骨髄幹細胞に3 μ Mの5-aza-Cの代わりに10 μ MのDMSOを24時間添加し、さらに6週間培養を続けた。その結果、拍動する心筋細胞が分化誘導することを見出し、これらの細胞にはNkx2.5およびGATA4遺伝子が発現しており、5-aza-Cを添加したときと同様の性質を有した心筋であることが示された。この解析結果は、5-aza-CとDMSOの共通の機能である染色体DNAの脱メチル化が心筋の分化に必要であることを示している。

【0115】

実施例5. 心筋形成能を有するマウス骨髄細胞が多分化能を有する幹細胞およ

び心筋前駆細胞であることの証明

マウス骨髄細胞から分化誘導する拍動細胞が心筋細胞の性質を保有していることは示されたが、心筋形成能を有するマウス骨髄細胞に、心筋前駆細胞が存在しているのか、もっと未分化で心筋細胞以外の、例えば脂肪細胞などに分化可能な幹細胞が存在するかを調べるため、シングルセル・マーキング (Single cell marking) の実験を行った。

【0 1 1 6】

具体的には、分化誘導を行う前に、ある 1 つの細胞に GFP 遺伝子をウィルスベクターを導入して標識し、その後分化誘導させて標識した細胞がどのような細胞に分化したかで判断した。

まず、GFP 遺伝子を発現させるレトロウイルスベクタープラスミド GAR3-GFP および、Ecotropic 遺伝子を発現させる pCMV-Eco プラスミドベクターを、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) 等に記載のアルカリ中和法および PEG 沈殿法を用いて、純度の高い DNA を取得した。

【0 1 1 7】

この DNA をトランスフェクションさせる前日に、コンフルエントになった、gag および pol 遺伝子を保有する 293 細胞を 1/5 希釈で 10cm ディッシュに継代し、一晚 37℃、5%CO₂ 濃度の孵卵機を用いて培養をおこなった。

トランスフェクションは以下の通りに行った。

GAR3-GFP レトロウイルスベクタープラスミド DNA 15 μ g と pCMV-Eco プラスミドベクター DNA 5 μ g を 250mM CaCl₂ (pH6.95) 0.5ml に加えて溶解させ、その溶液を 15ml のチューブに入れた 2×BBS [50mM BES (N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid), 280mM NaCl, 1.5mM Na₂HPO₄ (pH6.95)] 0.5ml に滴下して 10 分間室温で静置させた。その後、この DNA 溶液を、前日に用意した 293 細胞培地中に滴下させ、37℃、5%CO₂ 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。翌日、培地を交換し、更に 37℃、5%CO₂ 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

【0 1 1 8】

培地を交換して 2 日後に、培養上清を 0.45 μ m のフィルター (Millipore 社製)

でろ過し、ウィルスベクターを含む溶液を回収した。この溶液をIMDM培地で 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} に希釈した。

ウィルスベクターを導入される側の心筋形成能を有するマウス骨髄細胞は、ウィルスをインフェクションさせる前日に 2×10^4 細胞/ウェルとなるように 6 ウェル・ディッシュに蒔いた。

【0119】

希釈した、ウィルスベクターを含む溶液には、終濃度 $8 \mu\text{g/ml}$ となるように、Hexadimethrine bromide (polybrene) (Sigma 社製) を添加し、心筋形成能を有するマウス骨髄細胞の培養上清 2 ml をウィルス液 2 ml と置換し、 33°C 、5% CO_2 濃度の孵卵機を用いて培養をおこなった。5 時間後、培養上清を新しいIMDM培地に交換し、更に 33°C 、5% CO_2 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

【0120】

2 日間培養を行った後、蛍光顕微鏡下で GFP を発現している細胞を観察し、細胞 1000 個あたり 1 つの GFP 陽性細胞があるような細胞群を得た。

該細胞を 8×10^3 細胞/ディッシュとなるよう、35 mm ガラスベースディッシュ (旭テクノグラス社製) に蒔き、 33°C 、5% CO_2 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

翌日、5-aza-C (Sigma 社製)、PDGF-BB (Peprotech 社製)、all trans レチノイン酸 (Sigma 社製) をそれぞれ終濃度 $3 \mu\text{M}$ 、 10 ng/ml 、 10^{-9} M となるよう添加し、添加して 2 日後および 4 日後には、培地交換を行うとともに、再度 PDGF-BB (以降 PDGF と略す)、all trans レチノイン酸を上述と同じ濃度で添加した。

【0121】

4 週間後、蛍光顕微鏡で GFP 陽性細胞がどのように分化したかを観察すると、心筋細胞のみが GFP 陽性になっている細胞集団、心筋細胞と未分化幹細胞が GFP 陽性になっている細胞集団、ならびに心筋細胞、脂肪細胞および未分化幹細胞の 3 者が GFP 陽性になっている細胞集団の 3 種類の細胞集団が見られた。すなわち、多分化能幹細胞から心臓幹細胞さらに心筋前駆細胞へと制限を受けた前駆細胞が確率的 (stochastic) に誘導してくることが明らかとなった。またこの結果は、心筋形成能を有するマウス骨髄細胞には多分化能をもつ幹細胞が存在することを示している。

【0122】

実施例 6. 転写因子を強制発現による心筋細胞分化の促進

マウス心筋形成能を有する骨髄細胞に心筋分化に関係する転写因子を強制的に発現させることによる心筋細胞分化に与える影響を解析した。

具体的には、分化誘導を行う前に、Nkx2.5またはGATA4遺伝子をウィルスベクターを用いて導入して、その後分化誘導させて心筋細胞分化の効率を検討した。

【0123】

まず、Nkx2.5とGATA4の遺伝子を発現させる目的で、レトロウイルスベクタープラスミドpCLNCX (Imgenex社)にNkx2.5とGATA4をそれぞれ組み込み、pCLNC-Nkx2.5pとCLNC-GATA4を調製した。レトロウイルスベクタープラスミドpCLNC-Nkx2.5とpCLNC-GATA4および、Ecotropic遺伝子を発現させるpCMV-Ecoプラスミドベクター (Imgenex社)を、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)等に記載のアルカリ中和法およびPEG沈殿法を用いて、純度の高いDNAを取得した。

【0124】

これらのDNAをトランスフェクションさせる前日に、コンフルエントになった、gagおよびpol遺伝子を保有する293細胞を1/5希釈で10cmディッシュに継代し、一晚37℃、5%CO₂濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

トランスフェクションは以下の通りにおこなった。

pCLNC-Nkx2.5あるいはpCLNC-GATA4レトロウイルスベクタープラスミドDNA15 μ gとpCMV-EcoプラスミドベクターDNA5 μ gを250mM CaCl₂(pH6.95)0.5mlに加えて溶解させ、その溶液を15mlのチューブに入れた2 \times BBS [50mM BES(N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid), 280mM NaCl, 1.5mM Na₂HPO₄(pH6.95)] 0.5mlに滴下して10分間室温で静置させた。その後、このDNA溶液を、前日に用意した293細胞培地中に滴下させ、37℃、5%CO₂濃度の孵卵機を用いて培養を行った。翌日、培地を交換し、更に37℃、5%CO₂濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

【0125】

培地を交換して2日後に、培養上清を0.45 μ mのフィルター (Millipore社製)でろ過し、ウィルスベクターを含む溶液を回収した。

ウィルスベクターを導入される側の心筋形成能を有するマウス骨髓細胞は、ウィルスをインフェクションさせる前日に 2×10^4 細胞/ウェルとなるように6ウェル・ディッシュに蒔いておいた。

【0126】

上記で取得したウィルスベクターを含む溶液に、終濃度 $8 \mu\text{g/ml}$ となるように、Hexadimethrine bromide (polybrene) (Sigma社製) を添加し、心筋形成能を有するマウス骨髓細胞の培地置換し、 33°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。5時間後、新しいIMDM培地に交換し、更に 33°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 濃度の孵卵機を用いて培養を行った。

【0127】

2日間培養を行った後、G418を終濃度 $100 \mu\text{g/ml}$ になるように添加し、さらに3日間培養した。この間に一部の細胞は死滅して浮遊した。生き残った細胞をトリプシンで浮遊させ、新しい培養皿に播種した。

このようにして、取得したNkx2.5あるいはGATA4の安定形質転換細胞について、上記実施例3の方法により分化誘導を行い、心筋分化の効率を検定した。その結果、これら転写因子の強制発現により、心筋分化の効率が促進された。

【0128】

実施例7. 心筋形成能を有するマウス骨髓細胞でのテロメア活性

心筋形成能を有するマウス骨髓細胞のテロメア活性はTelomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP) 法により検討した (Oncor社製TRAPEze Telomerase Detection Kit)。テロメア活性の測定は原則的に添付されていたプロトコールに従ったが、具体的には以下の通りに行った。まず、6cm径の培養皿上で培養した心筋形成能を有するマウス骨髓細胞 (およそ 10^6 個) をPBSで洗浄した後、 $200 \mu\text{l}$ の $1 \times \text{CHAPS}$ 液を加え、氷上で30分間静置した。その後、溶液と共に細胞を 1.5ml 容遠沈管に回収し、 $14,000\text{rpm}$ で20分間遠心分離 (4°C 、HITACHI社製himacCF15) し、上清を細胞抽出液として回収した。Protein assay (BioRad社製) を用いて蛋白質含有量を測定したところ、上記条件で取得した心筋形成能を有するマウス骨髓細胞の細胞抽出液はおよそ 1mg/ml であった。

【0129】

次にこの細胞抽出液を用いて、プロトコールに従ってテロメアーゼ伸長反応及びPCR増幅を行った。TaqポリメラーゼはEX Taq polymerase（宝酒造製）を用いた。反応終了後の試料は10×染色液（0.25% bromophenol blue, 0.25% Xylene cyanol FF, 30% glycerol）を1/10量添加し、12.5%ポリアクリルアミドゲル（TRAPeze Telomerase Detection Kitのプロトコールに記載されている通り調製）に載せ、250mV定電圧下で泳動した。泳動後、ゲルをサイバーグリーン（FMC社製）で染色し、蛍光色素分析装置、FluoroImager（Molecular Dynamics社製）を用いて解析した。その結果、細胞抽出液の終濃度が0.4～4 μ g/mlの試料でテロメアーゼ活性が検出された。

【0130】

実施例 8. 心筋形成能を有するマウス骨髓細胞の心臓への移植

心筋形成能を有するマウス骨髓細胞を移植するために、まずC3H/Heマウス（日本チャールズリバー）に、エーテルを用いて麻酔の導入を行い、テルモ製のテルモシリンジ（1ml）を用いてチオペンタール30mgの腹腔内投与することで麻酔の維持を行った。コルク板にマウスの四肢をテープでコルク板に固定し、さらに首が反り返るように上顎をゴムでコルク板に固定した。この時点で左右の上肢及び右下肢に心電図電極を刺入し心電図のモニタリングを行った。続いて、メーヨ剪刀（NONAKA RIKAKI CO., LTD NK-174-14）で頸部を気管にそって1cmほど切開し、白十字社のベビー綿棒で甲状腺を左右に剥離をし、気管周囲の筋肉をマイクロ剪刀（NONAKA RIKAKI CO., LTD NY-334-08）で切開し気管を露出した。ついでマイクロフェザー（メス）で気管を1mmほど切開しここからJ型に変型させたテルモ製サーフローフラッシュ（22G）の針を挿入し口腔から外に出し、この針をガイドにサーフローフラッシュ（20G）の外とうを気管内に挿入した。この外とうにレスピレータ（シナノ製作所製のMODEL SN-480-7）をつなぎ100パーセント酸素を1ml/分で流し、一回換気量は1ml、呼吸回数は120/分で人工呼吸を開始した。このときにガイド針を挿入した穴からエアーがもれるので気管周囲の皮膚をモスキート鉗子（NONAKA RIKAKI CO., LTD）を用いて気管をおおうようにして閉鎖した。つぎに、胸骨柄より頸部に向かい2cmほどメーヨ剪刀で切開、ついで胸骨を2cmほど胸骨柄から頸部に向かい切開をした。出血をバイポーラの電気メスで止血し、テル

モ製のテルモシリンジ (1ml) にジーエルサイエンス社製の30Gの針 (メタルハブ交換針N730) をつけて心尖部に該心筋形成能を有するマウス骨髄細胞をPBSに浮遊した液体を0.1ml注入した。ついでETHICON社製の4-0 ETHIBOND X761を用いて胸骨の閉鎖、皮膚の閉鎖を行い、同じ針糸で頸部の皮膚の閉鎖をした。自発呼吸の出現を確認しレスピレータをはずしインファントウオーマーを37℃に加熱しこの中で覚醒を待った。なお本実験の操作はDESIGN FOR VISION 4.5× SURGICAL TELESCOPESを用いて行った。

【0131】

実施例 9. ラット骨髄からの心筋形成能を有する骨髄細胞の取得と培養

5週齢のWistar rat (日本SLC株式会社) 雌6匹を頸椎脱臼した後、70%エタノールを充分かけ消毒した。次に足部の皮膚を広範囲に渡り切開し、大腿骨や脛骨を覆う筋肉を切除しながら、大腿骨と脛骨を取り出した。取り出した大腿骨と脛骨はPBS (GibcoBRL社製) の入った10cm径培養皿 (岩城硝子社製) に移し、筋肉及び関節を完全に切除した。続いてこれらの骨の両端をハサミで切り、20G注射針を付けた10ml用注射器 (テルモ社製) を用いて、培養液 (D-PBS、GibcoBRL社製) の水流で骨髄中の内容物を押し出した。取得した細胞塊はさらに注射器を通して一様になるようにほぐした。このようにして得た細胞浮遊液は50ml容遠沈管 (BECTON DICKINSON社製) に回収し、1500rpmで10分間遠心分離し (TOMY社製低速遠心機)、沈殿した細胞を6mlのD-PBS中に懸濁した。改良ノイバウエル型血球計算盤にて細胞数を計測したところ、回収した細胞は合計 2.6×10^9 個であった。大腿骨または脛骨1本当たりから 1×10^8 個の細胞を回収したことになる。回収した細胞は1ml当たり 1.3×10^8 個の濃度になるよう希釈し、50ml容遠沈管に入った1.073g/mlに調製されたPercoll (Amersham Pharmacia Biotech社製) /D-PBS液 (25ml) 上に5ml重層した後、室温で3,100rpmで30分間遠心分離した。遠心分離後、Percoll液と細胞浮遊液との界面より細胞を回収し、D-PBSで4倍に希釈した後、2300rpmで10分間遠心分離し、分画した細胞集団を回収した。回収した細胞は20%FCS、100 μ g/ml penicillin, 250 ng/ml streptomycin, 85 μ g/ml amphotericin (GibcoBRL社製) を含むIMDM培地 (GibcoBRL社製) に懸濁した。この時点で再度細胞数を計測したところ、回収した骨髄由来細胞は合計 4.7×10^7 個あり、処理前

の細胞の約2%相当を回収したことになる。このようにして分画した骨髓由来細胞は $2\sim 5\times 10^5$ 個/cm²になるように10cm径の動物細胞用の培養皿（岩城硝子社製、以下10cm培養皿と略す）3枚に撒き、CO₂培養器（タバイ社製）にて33℃、5% CO₂濃度で培養を開始した。培地は24時間後、72時間後にそれぞれ半分交換した。その3～4日後に培地を半分交換した。15日経過し、コロニーが密集してきたので、細胞をトリプシンEDTA処理ではがし、2/3は4mlの保存液（10%DMSO、50%の骨髓由来細胞培養上清、40%の未使用上記培地）に懸濁し、2ml容チューブ（住友ベークライト社製）に1本当たり1ml分注して凍結保存し、残り1/3は10cm培養皿2枚に蒔き直し継代した。

【0132】

実施例10. ラット骨髓由来細胞の心筋分化能の検討

上記で継代したラット骨髓由来細胞は密集したところを再度トリプシンEDTA処理ではがし、6ウェルプレート（BECTON DICKINSON社製）には1ウェル当たり 5×10^4 個になるように、またヒトフィブロネクチンをコートした6cm径の培養皿（BECTON DICKINSON社製Biocoat）には 1.3×10^5 個になるように細胞を蒔き直した。1日後に5-アザシチジン（Sigma社製、終濃度10 μ M）のみを加えたものと、5-アザシチジン、PDGF-BB（Pepro Tech EC LTD.社製、終濃度10ng/ml）、all-transレチノイン酸（RA、Sigma社製、終濃度10⁻⁹M）を加えた二種類の異なる培養条件培養を行い、2日間培養した後に培地を交換した（後者の場合は培地交換時に再度PDGF、all-transレチノイン酸を加え、2日後にさらに加えた）。その3～4日後に、培地を交換し、3週間培養した。その結果5-アザシチジン、PDGF-BB、レチノイン酸を加えたもので筋管用細胞の分化が観察された。

【0133】

【発明の効果】

本発明によれば、心筋細胞の破壊ならびに変性を伴う心疾患の治療ならびに治療薬の探索に有効な骨髓細胞、増殖因子、ビタミン、接着分子、及びこれらの利用法が提供される。

「配列表フリーテキスト」

配列番号 33 - 人工配列の説明: 合成DNA

配列番号 3 4 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 3 5 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 3 6 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 3 7 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 3 8 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 3 9 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 0 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 1 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 2 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 3 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 4 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 5 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 6 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 7 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 8 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 4 9 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 0 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 1 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 2 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 3 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 4 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 5 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 6 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 7 - 人工配列の説明: 合成DNA
配列番号 5 8 - 人工配列の説明: 合成DNA

【0 1 3 4】

【配列表】

SEQUENCING LISTING

<110> KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD

<120> CARDIOGENIC CELLS FROM ADULT BONE MARROW

<160>

<210> 1

<211> 411

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Ala His Pro Gly Gly Gly Arg Cys Cys Pro Glu Gln Glu Glu

1 5 10 15

Gly Glu Ser Ala Ala Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Asp Ser Ala Ile

20 25 30

Glu Gln Gly Gly Gln Gly Ser Ala Leu Ala Pro Ser Pro Val Ser Gly

35 40 45

Val Arg Arg Glu Gly Ala Arg Gly Gly Gly Arg Gly Arg Gly Arg Trp

50 55 60

Lys Gln Ala Gly Arg Gly Gly Gly Val Cys Gly Arg Gly Arg Gly Arg

65 70 75 80

Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg

85

90

95

Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Leu Gly Gly Asp Gly Gly Gly Cys Gly

100

105

110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Arg Arg Glu Pro Val Pro

115

120

125

Phe Pro Ser Gly Ser Ala Gly Pro Gly Pro Arg Gly Pro Arg Ala Thr

130

135

140

Glu Ser Gly Lys Arg Met Asp Cys Pro Ala Leu Pro Pro Gly Trp Lys

145

150

155

160

Lys Glu Glu Val Ile Arg Lys Ser Gly Leu Ser Ala Gly Lys Ser Asp

165

170

175

Val Tyr Tyr Phe Ser Pro Ser Gly Lys Lys Phe Arg Ser Lys Pro Gln

180

185

190

Leu Ala Arg Tyr Leu Gly Asn Thr Val Asp Leu Ser Ser Phe Asp Phe

195

200

205

Arg Thr Gly Lys Met Met Pro Ser Lys Leu Gln Lys Asn Lys Gln Arg

210

215

220

Leu Arg Asn Asp Pro Leu Asn Gln Asn Lys Gly Lys Pro Asp Leu Asn

225 230 235 240

Thr Thr Leu Pro Ile Arg Gln Thr Ala Ser Ile Phe Lys Gln Pro Val

245 250 255

Thr Lys Val Thr Asn His Pro Ser Asn Lys Val Lys Ser Asp Pro Gln

260 265 270

Arg Met Asn Glu Gln Pro Arg Gln Leu Phe Trp Glu Lys Arg Leu Gln

275 280 285

Gly Leu Ser Ala Ser Asp Val Thr Glu Gln Ile Ile Lys Thr Met Glu

290 295 300

Leu Pro Lys Gly Leu Gln Gly Val Gly Pro Gly Ser Asn Asp Glu Thr

305 310 315 320

Leu Leu Ser Ala Val Ala Ser Ala Leu His Thr Ser Ser Ala Pro Ile

325 330 335

Thr Gly Gln Val Ser Ala Ala Val Glu Lys Asn Pro Ala Val Trp Leu

340 345 350

Asn Thr Ser Gln Pro Leu Cys Lys Ala Phe Ile Val Thr Asp Glu Asp

355 360 365

Ile Arg Lys Gln Glu Glu Arg Val Gln Gln Val Arg Lys Lys Leu Glu

370 375 380

Glu Ala Leu Met Ala Asp Ile Leu Ser Arg Ala Ala Asp Thr Glu Glu

385

390

395

400

Met Asp Ile Glu Met Asp Ser Gly Asp Glu Ala

405

410

【 0 1 3 5 】

<210> 2

<211> 1233

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1236)

<400> 2

atg cgc gcg cac ccg ggg gga ggc cgc tgc tgc ccg gag cag gag gag 48

Met Arg Ala His Pro Gly Gly Gly Arg Cys Cys Pro Glu Gln Glu Glu

1

5

10

15

ggg gag agt gcg gcg ggc ggc agc ggc gct ggc ggc gac tcc gcc ata 96

Gly Glu Ser Ala Ala Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Asp Ser Ala Ile

20

25

30

gag cag ggg ggc cag ggc agc gcg ctc gcc ccg tcc ccg gtg agc ggc 144

Glu Gln Gly Gly Gln Gly Ser Ala Leu Ala Pro Ser Pro Val Ser Gly

35	40	45	
gtg cgc agg gaa ggc gct cgg ggc ggc ggc cgt ggc cgg ggg cgg tgg			192
Val Arg Arg Glu Gly Ala Arg Gly Gly Gly Arg Gly Arg Gly Arg Trp			
50	55	60	
aag cag gcg ggc cgg ggc ggc ggc gtc tgt ggc cgt ggc cgg ggc cgg			240
Lys Gln Ala Gly Arg Gly Gly Gly Val Cys Gly Arg Gly Arg Gly Arg			
65	70	75	80
ggc cgt ggc cgg gga cgg gga cgg ggc cgg ggc cgg ggc cgc ggc cgt			288
Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg			
85	90	95	
ccc ccg agt ggc ggc agc ggc ctt ggc ggc gac ggc ggc ggc tgc ggc			336
Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Leu Gly Gly Asp Gly Gly Gly Cys Gly			
100	105	110	
ggc ggc ggc agc ggt ggc ggc ggc gcc ccc cgg cgg gag ccg gtc cct			384
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Arg Arg Glu Pro Val Pro			
115	120	125	
ttc ccg tcg ggg agc gcg ggg ccg ggg ccc agg gga ccc cgg gcc acg			432
Phe Pro Ser Gly Ser Ala Gly Pro Gly Pro Arg Gly Pro Arg Ala Thr			
130	135	140	
gag agc ggg aag agg atg gat tgc ccg gcc ctc ccc ccc gga tgg aag			480
Glu Ser Gly Lys Arg Met Asp Cys Pro Ala Leu Pro Pro Gly Trp Lys			
145	150	155	160

aag gag gaa gtg atc cga aaa tct ggg cta agt gct ggc aag agc gat 528

Lys Glu Glu Val Ile Arg Lys Ser Gly Leu Ser Ala Gly Lys Ser Asp

165

170

175

gtc tac tac ttc agt cca agt ggt aag aag ttc aga agc aag cct cag 576

Val Tyr Tyr Phe Ser Pro Ser Gly Lys Lys Phe Arg Ser Lys Pro Gln

180

185

190

ttg gca agg tac ctg gga aat act gtt gat ctc agc agt ttt gac ttc 624

Leu Ala Arg Tyr Leu Gly Asn Thr Val Asp Leu Ser Ser Phe Asp Phe

195

200

205

aga act gga aag atg atg cct agt aaa tta cag aag aac aaa cag aga 672

Arg Thr Gly Lys Met Met Pro Ser Lys Leu Gln Lys Asn Lys Gln Arg

210

215

220

ctg cga aac gat cct ctc aat caa aat aag ggt aaa cca gac ttg aat 720

Leu Arg Asn Asp Pro Leu Asn Gln Asn Lys Gly Lys Pro Asp Leu Asn

225

230

235

240

aca aca ttg cca att aga caa aca gca tca att ttc aaa caa ccg gta 768

Thr Thr Leu Pro Ile Arg Gln Thr Ala Ser Ile Phe Lys Gln Pro Val

245

250

255

acc aaa gtc aca aat cat cct agt aat aaa gtg aaa tca gac cca caa 816

Thr Lys Val Thr Asn His Pro Ser Asn Lys Val Lys Ser Asp Pro Gln

260

265

270

cga atg aat gaa cag cca cgt cag ctt ttc tgg gag aag agg cta caa 864
 Arg Met Asn Glu Gln Pro Arg Gln Leu Phe Trp Glu Lys Arg Leu Gln
 275 280 285

gga ctt agt gca tca gat gta aca gaa caa att ata aaa acc atg gaa 912
 Gly Leu Ser Ala Ser Asp Val Thr Glu Gln Ile Ile Lys Thr Met Glu
 290 295 300

cta ccc aaa ggt ctt caa gga gtt ggt cca ggt agc aat gat gag acc 960
 Leu Pro Lys Gly Leu Gln Gly Val Gly Pro Gly Ser Asn Asp Glu Thr
 305 310 315 320

ctt tta tct gct gtt gcc agt gct ttg cac aca agc tct gcg cca atc 1008
 Leu Leu Ser Ala Val Ala Ser Ala Leu His Thr Ser Ser Ala Pro Ile
 325 330 335

aca ggg caa gtc tcc gct gct gtg gaa aag aac cct gct gtt tgg ctt 1056
 Thr Gly Gln Val Ser Ala Ala Val Glu Lys Asn Pro Ala Val Trp Leu
 340 345 350

aac aca tct caa ccc ctc tgc aaa gct ttt att gtc aca gat gaa gac 1104
 Asn Thr Ser Gln Pro Leu Cys Lys Ala Phe Ile Val Thr Asp Glu Asp
 355 360 365

atc agg aaa cag gaa gag cga gta cag caa gta cgc aag aaa ttg gaa 1152
 Ile Arg Lys Gln Glu Glu Arg Val Gln Gln Val Arg Lys Lys Leu Glu
 370 375 380

gaa gca ctg atg gca gac atc ttg tcg cga gct gct gat aca gaa gag 1200

Glu Ala Leu Met Ala Asp Ile Leu Ser Arg Ala Ala Asp Thr Glu Glu

385

390

395

400

atg gat att gaa atg gac agt gga gat gaa gcc

1233

Met Asp Ile Glu Met Asp Ser Gly Asp Glu Ala

405

410

[0 1 3 6]

<210> 3

<211> 196

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Arg Thr Leu Ala Cys Leu Leu Leu Leu Gly Cys Gly Tyr Leu Ala

1

5

10

15

His Val Leu Ala Glu Glu Ala Glu Ile Pro Arg Glu Val Ile Glu Arg

20

25

30

Leu Ala Arg Ser Gln Ile His Ser Ile Arg Asp Leu Gln Arg Leu Leu

35

40

45

Glu Ile Asp Ser Val Gly Ser Glu Asp Ser Leu Asp Thr Ser Leu Arg

50

55

60

Ala His Gly Val His Ala Thr Lys His Val Pro Glu Lys Arg Pro Leu

65

70

75

80

Pro Ile Arg Arg Lys Arg Ser Ile Glu Glu Ala Val Pro Ala Val Cys

85

90

95

Lys Thr Arg Thr Val Ile Tyr Glu Ile Pro Arg Ser Gln Val Asp Pro

100

105

110

Thr Ser Ala Asn Phe Leu Ile Trp Pro Pro Cys Val Glu Val Lys Arg

115

120

125

Cys Thr Gly Cys Cys Asn Thr Ser Ser Val Lys Cys Gln Pro Ser Arg

130

135

140

Val His His Arg Ser Val Lys Val Ala Lys Val Glu Tyr Val Arg Lys

145

150

155

160

Lys Pro Lys Leu Lys Glu Val Gln Val Arg Leu Glu Glu His Leu Glu

165

170

175

Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ser Leu Asn Pro Asp Tyr Arg Glu Glu Asp

180

185

190

Thr Asp Val Arg

195

【0 1 3 7】

<210> 4

<211> 588

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(591)

<400> 4

atg agg acc ttg gct tgc ctg ctg ctc ctc ggc tgc gga tac ctc gcc 48
Met Arg Thr Leu Ala Cys Leu Leu Leu Leu Gly Cys Gly Tyr Leu Ala
1 5 10 15

cat gtt ctg gcc gag gaa gcc gag atc ccc cgc gag gtg atc gag agg 96
His Val Leu Ala Glu Glu Ala Glu Ile Pro Arg Glu Val Ile Glu Arg
20 25 30

ctg gcc cgc agt cag atc cac agc atc cgg gac ctc cag cga ctc ctg 144
Leu Ala Arg Ser Gln Ile His Ser Ile Arg Asp Leu Gln Arg Leu Leu
35 40 45

gag ata gac tcc gta ggg agt gag gat tct ttg gac acc agc ctg aga 192
Glu Ile Asp Ser Val Gly Ser Glu Asp Ser Leu Asp Thr Ser Leu Arg
50 55 60

gct cac ggg gtc cac gcc act aag cat gtg ccc gag aag cgg ccc ctg 240
Ala His Gly Val His Ala Thr Lys His Val Pro Glu Lys Arg Pro Leu
65 70 75 80

ccc att cgg agg aag aga agc atc gag gaa gct gtc ccc gct gtc tgc 288
 Pro Ile Arg Arg Lys Arg Ser Ile Glu Glu Ala Val Pro Ala Val Cys
 85 90 95

aag acc agg acg gtc att tac gag att cct cgg agt cag gtc gac ccc 336
 Lys Thr Arg Thr Val Ile Tyr Glu Ile Pro Arg Ser Gln Val Asp Pro
 100 105 110

acg tcc gcc aac ttc ctg atc tgg ccc ccg tgc gtg gag gtg aaa cgc 384
 Thr Ser Ala Asn Phe Leu Ile Trp Pro Pro Cys Val Glu Val Lys Arg
 115 120 125

tgc acc ggc tgc tgc aac acg agc agt gtc aag tgc cag ccc tcc cgc 432
 Cys Thr Gly Cys Cys Asn Thr Ser Ser Val Lys Cys Gln Pro Ser Arg
 130 135 140

gtc cac cac cgc agc gtc aag gtg gcc aag gtg gaa tac gtc agg aag 480
 Val His His Arg Ser Val Lys Val Ala Lys Val Glu Tyr Val Arg Lys
 145 150 155 160

aag cca aaa tta aaa gaa gtc cag gtg agg tta gag gag cat ttg gag 528
 Lys Pro Lys Leu Lys Glu Val Gln Val Arg Leu Glu Glu His Leu Glu
 165 170 175

tgc gcc tgc gcg acc aca agc ctg aat ccg gat tat cgg gaa gag gac 576
 Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ser Leu Asn Pro Asp Tyr Arg Glu Glu Asp
 180 185 190

acg gat gtg agg

588

Thr Asp Val Arg

195

【 0 1 3 8 】

<210> 5

<211> 241

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Asn Arg Cys Trp Ala Leu Phe Leu Ser Leu Cys Cys Tyr Leu Arg

1

5

10

15

Leu Val Ser Ala Glu Gly Asp Pro Ile Pro Glu Glu Leu Tyr Glu Met

20

25

30

Leu Ser Asp His Ser Ile Arg Ser Phe Asp Asp Leu Gln Arg Leu Leu

35

40

45

His Gly Asp Pro Gly Glu Glu Asp Gly Ala Glu Leu Asp Leu Asn Met

50

55

60

Thr Arg Ser His Ser Gly Gly Glu Leu Glu Ser Leu Ala Arg Gly Arg

65

70

75

80

Arg Ser Leu Gly Ser Leu Thr Ile Ala Glu Pro Ala Met Ile Ala Glu

85

90

95

Cys Lys Thr Arg Thr Glu Val Phe Glu Ile Ser Arg Arg Leu Ile Asp

100

105

110

Arg Thr Asn Ala Asn Phe Leu Val Trp Pro Pro Cys Val Glu Val Gln

115

120

125

Arg Cys Ser Gly Cys Cys Asn Asn Arg Asn Val Gln Cys Arg Pro Thr

130

135

140

Gln Val Gln Leu Arg Pro Val Gln Val Arg Lys Ile Glu Ile Val Arg

145

150

155

160

Lys Lys Pro Ile Phe Lys Lys Ala Thr Val Thr Leu Glu Asp His Leu

165

170

175

Ala Cys Lys Cys Glu Thr Val Ala Ala Ala Arg Pro Val Thr Arg Ser

180

185

190

Pro Gly Gly Ser Gln Glu Gln Arg Ala Lys Thr Pro Gln Thr Arg Val

195

200

205

Thr Ile Arg Thr Val Arg Val Arg Arg Pro Pro Lys Gly Lys His Arg

210

215

220

Lys Phe Lys His Thr His Asp Lys Thr Ala Leu Lys Glu Thr Leu Gly

225

230

235

240

Ala

【0 1 3 9】

<210> 6

<211> 723

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(726)

<400> 6

atg aat cgc tgc tgg gcg ctc ttc ctg tct ctc tgc tgc tac ctg cgt 48

Met Asn Arg Cys Trp Ala Leu Phe Leu Ser Leu Cys Cys Tyr Leu Arg

1

5

10

15

ctg gtc agc gcc gag ggg gac ccc att ccc gag gag ctt tat gag atg 96

Leu Val Ser Ala Glu Gly Asp Pro Ile Pro Glu Glu Leu Tyr Glu Met

20

25

30

ctg agt gac cac tcg atc cgc tcc ttt gat gat ctc caa cgc ctg ctg 144

Leu Ser Asp His Ser Ile Arg Ser Phe Asp Asp Leu Gln Arg Leu Leu

35

40

45

cac gga gac ccc gga gag gaa gat ggg gcc gag ttg gac ctg aac atg 192

His Gly Asp Pro Gly Glu Glu Asp Gly Ala Glu Leu Asp Leu Asn Met

50	55	60	
acc cgc tcc cac tct gga ggc gag ctg gag agc ttg gct cgt gga aga			240
Thr Arg Ser His Ser Gly Gly Glu Leu Glu Ser Leu Ala Arg Gly Arg			
65	70	75	80
agg agc ctg ggt tcc ctg acc att gct gag ccg gcc atg atc gcc gag			288
Arg Ser Leu Gly Ser Leu Thr Ile Ala Glu Pro Ala Met Ile Ala Glu			
	85	90	95
tgc aag acg cgc acc gag gtg ttc gag atc tcc cgg cgc ctc ata gac			336
Cys Lys Thr Arg Thr Glu Val Phe Glu Ile Ser Arg Arg Leu Ile Asp			
	100	105	110
cgc acc aac gcc aac ttc ctg gtg tgg ccg ccc tgt gtg gag gtg cag			384
Arg Thr Asn Ala Asn Phe Leu Val Trp Pro Pro Cys Val Glu Val Gln			
	115	120	125
cgc tgc tcc ggc tgc tgc aac aac cgc aac gtg cag tgc cgc ccc acc			432
Arg Cys Ser Gly Cys Cys Asn Asn Arg Asn Val Gln Cys Arg Pro Thr			
	130	135	140
cag gtg cag ctg cga cct gtc cag gtg aga aag atc gag att gtg cgg			480
Gln Val Gln Leu Arg Pro Val Gln Val Arg Lys Ile Glu Ile Val Arg			
	145	150	155
aag aag cca atc ttt aag aag gcc acg gtg acg ctg gaa gac cac ctg			528
Lys Lys Pro Ile Phe Lys Lys Ala Thr Val Thr Leu Glu Asp His Leu			
	165	170	175

gca tgc aag tgt gag aca gtg gca gct gca cgg cct gtg acc cga agc 576

Ala Cys Lys Cys Glu Thr Val Ala Ala Ala Arg Pro Val Thr Arg Ser

180

185

190

ccg ggg ggt tcc cag gag cag cga gcc aaa acg ccc caa act cgg gtg 624

Pro Gly Gly Ser Gln Glu Gln Arg Ala Lys Thr Pro Gln Thr Arg Val

195

200

205

acc att cgg acg gtg cga gtc cgc cgg ccc ccc aag ggc aag cac cgg 672

Thr Ile Arg Thr Val Arg Val Arg Arg Pro Pro Lys Gly Lys His Arg

210

215

220

aaa ttc aag cac acg cat gac aag acg gca ctg aag gag acc ctt gga 720

Lys Phe Lys His Thr His Asp Lys Thr Ala Leu Lys Glu Thr Leu Gly

225

230

235

240

gcc

723

Ala

【0 1 4 0】

<210> 7

<211> 155

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Ala Ala Gly Ser Ile Thr Thr Leu Pro Ala Leu Pro Glu Asp Gly

1 5 10 15

Gly Ser Gly Ala Phe Pro Pro Gly His Phe Lys Asp Pro Lys Arg Leu

20 25 30

Tyr Cys Lys Asn Gly Gly Phe Phe Leu Arg Ile His Pro Asp Gly Arg

35 40 45

Val Asp Gly Val Arg Glu Lys Ser Asp Pro His Ile Lys Leu Gln Leu

50 55 60

Gln Ala Glu Glu Arg Gly Val Val Ser Ile Lys Gly Val Cys Ala Asn

65 70 75 80

Arg Tyr Leu Ala Met Lys Glu Asp Gly Arg Leu Leu Ala Ser Lys Cys

85 90 95

Val Thr Asp Glu Cys Phe Phe Phe Glu Arg Leu Glu Ser Asn Asn Tyr

100 105 110

Asn Thr Tyr Arg Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Val Ala Leu Lys

115 120 125

Arg Thr Gly Gln Tyr Lys Leu Gly Ser Lys Thr Gly Pro Gly Gln Lys

130 135 140

Ala Ile Leu Phe Leu Pro Met Ser Ala Lys Ser

145 150

【 0 1 4 1 】

<210> 8

<211> 465

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(468)

<400> 8

atg gca gcc ggg agc atc acc acg ctg ccc gcc ttg ccc gag gat ggc 48

Met Ala Ala Gly Ser Ile Thr Thr Leu Pro Ala Leu Pro Glu Asp Gly

1 5 10 15

ggc agc ggc gcc ttc ccg ccc ggc cac ttc aag gac ccc aag cgg ctg 96

Gly Ser Gly Ala Phe Pro Pro Gly His Phe Lys Asp Pro Lys Arg Leu

20 25 30

tac tgc aaa aac ggg ggc ttc ttc ctg cgc atc cac ccc gac ggc cga 144

Tyr Cys Lys Asn Gly Gly Phe Phe Leu Arg Ile His Pro Asp Gly Arg

35 40 45

gtt gac ggg gtc cgg gag aag agc gac cct cac atc aag cta caa ctt 192

Val Asp Gly Val Arg Glu Lys Ser Asp Pro His Ile Lys Leu Gln Leu

50 55 60

caa gca gaa gag aga gga gtt gtg tct atc aaa gga gtg tgt gct aac 240

Gln Ala Glu Glu Arg Gly Val Val Ser Ile Lys Gly Val Cys Ala Asn

65

70

75

80

cgt tac ctg gct atg aag gaa gat gga aga tta ctg gct tct aaa tgt 288

Arg Tyr Leu Ala Met Lys Glu Asp Gly Arg Leu Leu Ala Ser Lys Cys

85

90

95

gtt acg gat gag tgt ttc ttt ttt gaa cga ttg gaa tct aat aac tac 336

Val Thr Asp Glu Cys Phe Phe Phe Glu Arg Leu Glu Ser Asn Asn Tyr

100

105

110

aat act tac cgg tca agg aaa tac acc agt tgg tat gtg gca ttg aaa 384

Asn Thr Tyr Arg Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Val Ala Leu Lys

115

120

125

cga act ggg cag tat aaa ctt gga tcc aaa aca gga cct ggg cag aaa 432

Arg Thr Gly Gln Tyr Lys Leu Gly Ser Lys Thr Gly Pro Gly Gln Lys

130

135

140

gct ata ctt ttt ctt cca atg tct gct aag agc 465

Ala Ile Leu Phe Leu Pro Met Ser Ala Lys Ser

145

150

155

【 0 1 4 2 】

<210> 9

<211> 324

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Phe Pro Ser Pro Ala Leu Thr Pro Thr Pro Phe Ser Val Lys Asp

1

5

10

15

Ile Leu Asn Leu Glu Gln Gln Gln Arg Ser Leu Ala Ala Ala Gly Glu

20

25

30

Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ala Thr Leu Ala Pro Ser Ser Cys Met Leu

35

40

45

Ala Ala Phe Lys Pro Glu Ala Tyr Ala Gly Pro Glu Ala Ala Ala Pro

50

55

60

Gly Leu Pro Glu Leu Arg Ala Glu Leu Gly Arg Ala Pro Ser Pro Ala

65

70

75

80

Lys Cys Ala Ser Ala Phe Pro Ala Ala Pro Ala Phe Tyr Pro Arg Ala

85

90

95

Tyr Ser Asp Pro Asp Pro Ala Lys Asp Pro Arg Ala Glu Lys Lys Glu

100

105

110

Leu Cys Ala Leu Gln Lys Ala Val Glu Leu Glu Lys Thr Glu Ala Asp

115

120

125

Asn Ala Glu Arg Pro Arg Ala Arg Arg Arg Arg Lys Pro Arg Val Leu
130 135 140

Phe Ser Gln Ala Gln Val Tyr Glu Leu Glu Arg Arg Phe Lys Gln Gln
145 150 155 160

Arg Tyr Leu Ser Ala Pro Glu Arg Asp Gln Leu Ala Ser Val Leu Lys
165 170 175

Leu Thr Ser Thr Gln Val Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Tyr Lys
180 185 190

Cys Lys Arg Gln Arg Gln Asp Gln Thr Leu Glu Leu Val Gly Leu Pro
195 200 205

Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala Arg Arg Ile Ala Val Pro Val Leu Val
210 215 220

Arg Asp Gly Lys Pro Cys Leu Gly Asp Ser Ala Pro Tyr Ala Pro Ala
225 230 235 240

Tyr Gly Val Gly Leu Asn Pro Tyr Gly Tyr Asn Ala Tyr Pro Ala Tyr
245 250 255

Pro Gly Tyr Gly Gly Ala Ala Cys Ser Pro Gly Tyr Ser Cys Thr Ala
260 265 270

Ala Tyr Pro Ala Gly Pro Ser Pro Ala Gln Pro Ala Thr Ala Ala Ala
275 280 285

Asn Asn Asn Phe Val Asn Phe Gly Val Gly Asp Leu Asn Ala Val Gln
 290 295 300

Ser Pro Gly Ile Pro Gln Ser Asn Ser Gly Val Ser Thr Leu His Gly
 305 310 315 320

Ile Arg Ala Trp

【 0 1 4 3 】

<210> 10

<211> 972

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(975)

<400> 10

atg ttc ccc agc cct gct ctc acg ccc acg ccc ttc tca gtc aaa gac 48
 Met Phe Pro Ser Pro Ala Leu Thr Pro Thr Pro Phe Ser Val Lys Asp
 1 5 10 15

atc cta aac ctg gaa cag cag cag cgc agc ctg gct gcc gcc gga gag 96
 Ile Leu Asn Leu Glu Gln Gln Gln Arg Ser Leu Ala Ala Ala Gly Glu
 20 25 30

ctc tct gcc cgc ctg gag gcg acc ctg gcg ccc tcc tcc tgc atg ctg 144
Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ala Thr Leu Ala Pro Ser Ser Cys Met Leu

35

40

45

gcc gcc ttc aag cca gag gcc tac gct ggg ccc gag gcg gct gcg ccg 192
Ala Ala Phe Lys Pro Glu Ala Tyr Ala Gly Pro Glu Ala Ala Ala Pro

50

55

60

ggc ctc cca gag ctg cgc gca gag ctg ggc cgc gcg cct tca ccg gcc 240
Gly Leu Pro Glu Leu Arg Ala Glu Leu Gly Arg Ala Pro Ser Pro Ala

65

70

75

80

aag tgt gcg tct gcc ttt ccc gcc gcc ccc gcc ttc tat cca cgt gcc 288
Lys Cys Ala Ser Ala Phe Pro Ala Ala Pro Ala Phe Tyr Pro Arg Ala

85

90

95

tac agc gac ccc gac cca gcc aag gac cct aga gcc gaa aag aaa gag 336
Tyr Ser Asp Pro Asp Pro Ala Lys Asp Pro Arg Ala Glu Lys Lys Glu

100

105

110

ctg tgc gcg ctg cag aag gcg gtg gag ctg gag aag aca gag gcg gac 384
Leu Cys Ala Leu Gln Lys Ala Val Glu Leu Glu Lys Thr Glu Ala Asp

115

120

125

aac gcg gag cgg ccc cgg gcg cga cgg cgg agg aag ccg cgc gtg ctc 432
Asn Ala Glu Arg Pro Arg Ala Arg Arg Arg Arg Lys Pro Arg Val Leu

130

135

140

ttc tcg cag gcg cag gtc tat gag ctg gag cgg cgc ttc aag cag cag 480
Phe Ser Gln Ala Gln Val Tyr Glu Leu Glu Arg Arg Phe Lys Gln Gln
145 150 155 160

cgg tac ctg tcg gcc ccc gaa cgc gac cag ctg gcc agc gtg ctg aaa 528
Arg Tyr Leu Ser Ala Pro Glu Arg Asp Gln Leu Ala Ser Val Leu Lys
165 170 175

ctc acg tcc acg cag gtc aag atc tgg ttc cag aac cgg cgc tac aag 576
Leu Thr Ser Thr Gln Val Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Tyr Lys
180 185 190

tgc aag cgg cag cgg cag gac cag act ctg gag ctg gtg ggg ctg ccc 624
Cys Lys Arg Gln Arg Gln Asp Gln Thr Leu Glu Leu Val Gly Leu Pro
195 200 205

ccg ccg ccg ccg ccg cct gcc cgc agg atc gcg gtg cca gtg ctg gtg 672
Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala Arg Arg Ile Ala Val Pro Val Leu Val
210 215 220

cgc gat ggc aag cca tgc cta ggg gac tcg gcg ccc tac gcg cct gcc 720
Arg Asp Gly Lys Pro Cys Leu Gly Asp Ser Ala Pro Tyr Ala Pro Ala
225 230 235 240

tac ggc gtg ggc ctc aat ccc tac ggt tat aac gcc tac ccc gcc tat 768
Tyr Gly Val Gly Leu Asn Pro Tyr Gly Tyr Asn Ala Tyr Pro Ala Tyr
245 250 255

ccg ggt tac ggc ggc gcg gcc tgc agc cct ggc tac agc tgc act gcc 816

Pro Gly Tyr Gly Gly Ala Ala Cys Ser Pro Gly Tyr Ser Cys Thr Ala

260

265

270

gct tac ccc gcc ggg cct tcc cca gcg cag ccg gcc act gcc gcc gcc 864

Ala Tyr Pro Ala Gly Pro Ser Pro Ala Gln Pro Ala Thr Ala Ala Ala

275

280

285

aac aac aac ttc gtg aac ttc ggc gtc ggg gac ttg aat gcg gtt cag 912

Asn Asn Asn Phe Val Asn Phe Gly Val Gly Asp Leu Asn Ala Val Gln

290

295

300

agc ccc ggg att ccg cag agc aac tcg gga gtg tcc acg ctg cat ggt 960

Ser Pro Gly Ile Pro Gln Ser Asn Ser Gly Val Ser Thr Leu His Gly

305

310

315

320

atc cga gcc tgg

972

Ile Arg Ala Trp

324

【0 1 4 4】

<210> 11

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Tyr Gln Ser Leu Ala Met Ala Ala Asn His Gly Pro Pro Pro Gly

1	5	10	15
Ala Tyr Gln Ala Gly Gly Pro Gly Pro Phe Met His Gly Ala Gly Ala			
20	25	30	
Ala Ser Ser Pro Val Tyr Leu Pro Thr Pro Arg Val Pro Ser Ser Val			
35	40	45	
Leu Gly Leu Ser Tyr Leu Gln Gly Gly Gly Ala Gly Ser Ala Ser Gly			
50	55	60	
Gly Pro Ser Gly Gly Ser Pro Gly Gly Ala Ala Ser Gly Ala Gly Pro			
65	70	75	80
Gly Thr Gln Gln Gly Ser Pro Gly Trp Ser Gln Ala Gly Ala Thr Gly			
85	90	95	
Ala Ala Tyr Thr Pro Pro Pro Val Ser Pro Arg Phe Ser Phe Pro Gly			
100	105	110	
Thr Thr Gly Ser Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Arg Glu			
115	120	125	
Ala Ala Ala Tyr Ser Ser Gly Gly Gly Ala Ala Gly Ala Gly Leu Ala			
130	135	140	
Gly Arg Glu Gln Tyr Gly Arg Ala Gly Phe Ala Gly Ser Tyr Ser Ser			
145	150	155	160

Pro Tyr Pro Ala Tyr Met Ala Asp Val Gly Ala Ser Trp Ala Ala Ala

165

170

175

Ala Ala Ala Ser Ala Gly Pro Phe Asp Ser Pro Val Leu His Ser Leu

180

185

190

Pro Gly Arg Ala Asn Pro Ala Ala Arg His Pro Asn Leu Asp Met Phe

195

200

205

Asp Asp Phe Ser Glu Gly Arg Glu Cys Val Asn Cys Gly Ala Met Ser

210

215

220

Thr Pro Leu Trp Arg Arg Asp Gly Thr Gly His Tyr Leu Cys Asn Ala

225

230

235

240

Cys Gly Leu Tyr His Lys Met Asn Gly Ile Asn Arg Pro Leu Ile Lys

245

250

255

Pro Gln Arg Arg Leu Ser Ala Ser Arg Arg Val Gly Leu Ser Cys Ala

260

265

270

Asn Cys Gln Thr Thr Thr Thr Thr Leu Trp Arg Arg Asn Ala Glu Gly

275

280

285

Glu Pro Val Cys Asn Ala Cys Gly Leu Tyr Met Lys Leu His Gly Val

290

295

300

Pro Arg Pro Leu Ala Met Arg Lys Glu Gly Ile Gln Thr Arg Lys Arg

305

310

315

320

Lys Pro Lys Asn Leu Asn Lys Ser Lys Thr Pro Ala Ala Pro Ser Gly
 325 330 335

Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ala Ser Gly Ala Ser Ser Asn Ser Ser Asn
 340 345 350

Ala Thr Thr Ser Ser Ser Glu Glu Met Arg Pro Ile Lys Thr Glu Pro
 355 360 365

Gly Leu Ser Ser His Tyr Gly His Ser Ser Ser Val Ser Gln Thr Phe
 370 375 380

Ser Val Ser Ala Met Ser Gly His Gly Pro Ser Ile His Pro Val Leu
 385 390 395 400

Ser Ala Leu Lys Leu Ser Pro Gln Gly Tyr Ala Ser Pro Val Ser Gln
 405 410 415

Ser Pro Gln Thr Ser Ser Lys Gln Asp Ser Trp Asn Ser Leu Val Leu
 420 425 430

Ala Asp Ser His Gly Asp Ile Ile Thr Ala
 435 440

【 0 1 4 5 】

<210> 12

<211> 1326

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1329)

<400> 12

atg tat cag agc ttg gcc atg gcc gcc aac cac ggg ccg ccc ccc ggt 48

Met Tyr Gln Ser Leu Ala Met Ala Ala Asn His Gly Pro Pro Pro Gly

1

5

10

15

gcc tac cag gcg ggc ggc ccc ggc ccc ttc atg cac ggc gcg ggc gcc 96

Ala Tyr Gln Ala Gly Gly Pro Gly Pro Phe Met His Gly Ala Gly Ala

20

25

30

gcg tcc tcg cca gtc tac ctg ccc aca ccg cgg gtg ccc tcc tcc gtt 144

Ala Ser Ser Pro Val Tyr Leu Pro Thr Pro Arg Val Pro Ser Ser Val

35

40

45

ctg ggc ctg tcc tac ctc cag ggc gga ggc gcg ggc tct gcg tcc gga 192

Leu Gly Leu Ser Tyr Leu Gln Gly Gly Gly Ala Gly Ser Ala Ser Gly

50

55

60

ggc ccc tcg ggc ggc agc ccc ggt ggg gcc gcg tct ggt gcg ggg ccc 240

Gly Pro Ser Gly Gly Ser Pro Gly Gly Ala Ala Ser Gly Ala Gly Pro

65

70

75

80

ggg acc cag cag ggc agc ccg gga tgg agc cag gcg gga gcg acc gga 288
Gly Thr Gln Gln Gly Ser Pro Gly Trp Ser Gln Ala Gly Ala Thr Gly
85 90 95

gcc gct tac acc ccg ccg ccg gtg tgg ccg cgc ttc tcc ttc ccg ggg 336
Ala Ala Tyr Thr Pro Pro Pro Val Ser Pro Arg Phe Ser Phe Pro Gly
100 105 110

acc acc ggg tcc ctg gcg gcg gcg gcg gcg gct gcc gcc gcc cgg gaa 384
Thr Thr Gly Ser Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Arg Glu
115 120 125

gct gcg gcc tac agc agt ggc ggc gga gcg gcg ggt gcg ggc ctg gcg 432
Ala Ala Ala Tyr Ser Ser Gly Gly Gly Ala Ala Gly Ala Gly Leu Ala
130 135 140

ggc cgc gag cag tac ggg cgc gcc ggc ttc gcg ggc tcc tac tcc agc 480
Gly Arg Glu Gln Tyr Gly Arg Ala Gly Phe Ala Gly Ser Tyr Ser Ser
145 150 155 160

ccc tac ccg gct tac atg gcc gac gtg ggc gcg tcc tgg gcc gca gcc 528
Pro Tyr Pro Ala Tyr Met Ala Asp Val Gly Ala Ser Trp Ala Ala Ala
165 170 175

gcc gcc gcc tcc gcc ggc ccc ttc gac agc ccg gtc ctg cac agc ctg 576
Ala Ala Ala Ser Ala Gly Pro Phe Asp Ser Pro Val Leu His Ser Leu
180 185 190

ccc ggc cgg gcc aac ccg gcc gcc cga cac ccc aat ctc gat atg ttt 624

Pro Gly Arg Ala Asn Pro Ala Ala Arg His Pro Asn Leu Asp Met Phe

195

200

205

gac gac ttc tca gaa ggc aga gag tgt gtc aac tgt ggg gct atg tcc 672

Asp Asp Phe Ser Glu Gly Arg Glu Cys Val Asn Cys Gly Ala Met Ser

210

215

220

acc ccg ctc tgg agg cga gat ggg acg ggt cac tat ctg tgc aac gcc 720

Thr Pro Leu Trp Arg Arg Asp Gly Thr Gly His Tyr Leu Cys Asn Ala

225

230

235

240

tgt ggc ctc tac cac aag atg aac ggc atc aac cgg ccg ctc atc aag 768

Cys Gly Leu Tyr His Lys Met Asn Gly Ile Asn Arg Pro Leu Ile Lys

245

250

255

cct cag cgc cgg ctg tcc gcc tcc cgc cga gtg ggc ctc tcc tgt gcc 816

Pro Gln Arg Arg Leu Ser Ala Ser Arg Arg Val Gly Leu Ser Cys Ala

260

265

270

aac tgc cag acc acc acc acc acg ctg tgg cgc cgc aat gcg gag ggc 864

Asn Cys Gln Thr Thr Thr Thr Thr Leu Trp Arg Arg Asn Ala Glu Gly

275

280

285

gag cct gtg tgc aat gcc tgc ggc ctc tac atg aag ctc cac ggg gtg 912

Glu Pro Val Cys Asn Ala Cys Gly Leu Tyr Met Lys Leu His Gly Val

290

295

300

ccc agg cct ctt gca atg cgg aaa gag ggg atc caa acc aga aaa cgg 960

Pro Arg Pro Leu Ala Met Arg Lys Glu Gly Ile Gln Thr Arg Lys Arg

305	310	315	320	
aag ccc aag aac ctg aat aaa tct aag aca cca gca gct cct tca ggc				1008
Lys Pro Lys Asn Leu Asn Lys Ser Lys Thr Pro Ala Ala Pro Ser Gly				
	325	330	335	
agt gag agc ctt cct ccc gcc agc ggt gct tcc agc aac tcc agc aac				1056
Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ala Ser Gly Ala Ser Ser Asn Ser Ser Asn				
	340	345	350	
gcc acc acc agc agc agc gag gag atg cgt ccc atc aag acg gag cct				1104
Ala Thr Thr Ser Ser Ser Glu Glu Met Arg Pro Ile Lys Thr Glu Pro				
	355	360	365	
ggc ctg tca tct cac tac ggg cac agc agc tcc gtg tcc cag acg ttc				1152
Gly Leu Ser Ser His Tyr Gly His Ser Ser Ser Val Ser Gln Thr Phe				
	370	375	380	
tca gtc agt gcg atg tct ggc cat ggg ccc tcc atc cac cct gtc etc				1200
Ser Val Ser Ala Met Ser Gly His Gly Pro Ser Ile His Pro Val Leu				
	385	390	395	400
tcg gcc ctg aag ctc tcc cca caa ggc tat gcg tct ccc gtc agc cag				1248
Ser Ala Leu Lys Leu Ser Pro Gln Gly Tyr Ala Ser Pro Val Ser Gln				
	405	410	415	
tct cca cag acc agc tcc aag cag gac tct tgg aac agt ctg gtc ttg				1296
Ser Pro Gln Thr Ser Ser Lys Gln Asp Ser Trp Asn Ser Leu Val Leu				
	420	425	430	

gcc gac agt cac ggg gac ata atc act gcg

1326

Ala Asp Ser His Gly Asp Ile Ile Thr Ala

435

440

【 0 1 4 6 】

<210> 13

<211> 507

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Thr Arg Ile Met Asp Glu Arg Asn

1

5

10

15

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20

25

30

Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe

35

40

45

Asn Ser Ser Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys

50

55

60

Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr

65

70

75

80

Asn Ser Asp Ile Val Glu Ala Leu Asn Lys Lys Glu His Arg Gly Cys

85

90

95

Asp Ser Pro Asp Pro Asp Thr Ser Tyr Val Leu Thr Pro His Thr Glu

100

105

110

Glu Lys Tyr Lys Lys Ile Asn Glu Glu Phe Asp Asn Met Met Arg Asn

115

120

125

His Lys Ile Ala Pro Gly Leu Pro Pro Gln Asn Phe Ser Met Ser Val

130

135

140

Thr Val Pro Val Thr Ser Pro Asn Ala Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Gly

145

150

155

160

Ser Ser Leu Val Ser Pro Ser Leu Ala Ala Ser Ser Thr Leu Thr Asp

165

170

175

Ser Ser Met Leu Ser Pro Pro Gln Thr Thr Leu His Arg Asn Val Ser

180

185

190

Pro Gly Ala Pro Gln Arg Pro Pro Ser Thr Gly Asn Ala Gly Gly Met

195

200

205

Leu Ser Thr Thr Asp Leu Thr Val Pro Asn Gly Ala Gly Ser Ser Pro

210

215

220

Val Gly Asn Gly Phe Val Asn Ser Arg Ala Ser Pro Asn Leu Ile Gly

225

230

235

240

Ala Thr Gly Ala Asn Ser Leu Gly Lys Val Met Pro Thr Lys Ser Pro
245 250 255

Pro Pro Pro Gly Gly Gly Asn Leu Gly Met Asn Ser Arg Lys Pro Asp
260 265 270

Leu Arg Val Val Ile Pro Pro Ser Ser Lys Gly Met Met Pro Pro Leu
275 280 285

Ser Glu Glu Glu Glu Leu Glu Leu Asn Thr Gln Arg Ile Ser Ser Ser
290 295 300

Gln Ala Thr Gln Pro Leu Ala Thr Pro Val Val Ser Val Thr Thr Pro
305 310 315 320

Ser Leu Pro Pro Gln Gly Leu Val Tyr Ser Ala Met Pro Thr Ala Tyr
325 330 335

Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ser Ala Asp Leu Ser Ala Leu Gln Gly
340 345 350

Phe Asn Ser Pro Gly Met Leu Ser Leu Gly Gln Val Ser Ala Trp Gln
355 360 365

Gln His His Leu Gly Gln Ala Ala Leu Ser Ser Leu Val Ala Gly Gly
370 375 380

Gln Leu Ser Gln Gly Ser Asn Leu Ser Ile Asn Thr Asn Gln Asn Ile

385	390	395	400
Ser Ile Lys Ser Glu Pro Ile Ser Pro Pro Arg Asp Arg Met Thr Pro			
	405	410	415
Ser Gly Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro			
	420	425	430
Pro Pro Pro Gln Pro Gln Pro Gln Pro Pro Gln Pro Gln Pro Arg Gln			
	435	440	445
Glu Met Gly Arg Ser Pro Val Asp Ser Leu Ser Ser Ser Ser Ser Ser			
	450	455	460
Tyr Asp Gly Ser Asp Arg Glu Asp Pro Arg Gly Asp Phe His Ser Pro			
465	470	475	480
Ile Val Leu Gly Arg Pro Pro Asn Thr Glu Asp Arg Glu Ser Pro Ser			
	485	490	495
Val Lys Arg Met Arg Met Asp Ala Trp Val Thr			
	500	505	

【 0 1 4 7 】

<210> 14

<211> 1521

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1524)

<400> 14

atg ggg cgg aag aaa ata caa atc aca cgc ata atg gat gaa agg aac 48

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Thr Arg Ile Met Asp Glu Arg Asn

1 5 10 15

cga cag gtc act ttt aca aag aga aag ttt gga tta atg aag aaa gcc 96

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20 25 30

tat gaa ctt agt gtg ctc tgt gac tgt gaa ata gca ctc atc att ttc 144

Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe

35 40 45

aac agc tct aac aaa ctg ttt caa tat gct agc act gat atg gac aaa 192

Asn Ser Ser Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys

50 55 60

gtt ctt ctc aag tat aca gaa tat aat gaa cct cat gaa agc aga acc 240

Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr

65 70 75 80

aac tcg gat att gtt gag gct ctg aac aag aag gaa cac aga ggg tgc 288

Asn Ser Asp Ile Val Glu Ala Leu Asn Lys Lys Glu His Arg Gly Cys

85

90

95

gac agc cca gac cct gat act tca tat gtg cta act cca cat aca gaa 336

Asp Ser Pro Asp Pro Asp Thr Ser Tyr Val Leu Thr Pro His Thr Glu

100

105

110

gaa aaa tat aaa aaa att aat gag gaa ttt gat aat atg atg cgg aat 384

Glu Lys Tyr Lys Lys Ile Asn Glu Glu Phe Asp Asn Met Met Arg Asn

115

120

125

cat aaa atc gca cct ggt ctg cca cct cag aac ttt tca atg tct gtc 432

His Lys Ile Ala Pro Gly Leu Pro Pro Gln Asn Phe Ser Met Ser Val

130

135

140

aca gtt cca gtg acc agc ccc aat gct ttg tcc tac act aac cca ggg 480

Thr Val Pro Val Thr Ser Pro Asn Ala Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Gly

145

150

155

160

agt tca ctg gtg tcc cca tct ttg gca gcc agc tca acg tta aca gat 528

Ser Ser Leu Val Ser Pro Ser Leu Ala Ala Ser Ser Thr Leu Thr Asp

165

170

175

tca agc atg ctc tct cca cct caa acc aca tta cat aga aat gtg tct 576

Ser Ser Met Leu Ser Pro Pro Gln Thr Thr Leu His Arg Asn Val Ser

180

185

190

cct gga gct cct cag aga cca cca agt act ggc aat gca ggt ggg atg 624

Pro Gly Ala Pro Gln Arg Pro Pro Ser Thr Gly Asn Ala Gly Gly Met

195

200

205

ttg agc act aca gac ctc aca gtg cca aat gga gct gga agc agt cca 672
Leu Ser Thr Thr Asp Leu Thr Val Pro Asn Gly Ala Gly Ser Ser Pro

210

215

220

gtg ggg aat gga ttt gta aac tca aga gct tct cca aat ttg att gga 720
Val Gly Asn Gly Phe Val Asn Ser Arg Ala Ser Pro Asn Leu Ile Gly

225

230

235

240

gct act ggt gca aat agc tta ggc aaa gtc atg cct aca aag tct ccc 768
Ala Thr Gly Ala Asn Ser Leu Gly Lys Val Met Pro Thr Lys Ser Pro

245

250

255

cct cca cca ggt ggt ggt aat ctt gga atg aac agt agg aaa cca gat 816
Pro Pro Pro Gly Gly Gly Asn Leu Gly Met Asn Ser Arg Lys Pro Asp

260

265

270

ctt cga gtt gtc atc ccc cct tca agc aag ggc atg atg cct cca cta 864
Leu Arg Val Val Ile Pro Pro Ser Ser Lys Gly Met Met Pro Pro Leu

275

280

285

tcg gag gaa gag gaa ttg gag ttg aac acc caa agg atc agt agt tct 912
Ser Glu Glu Glu Glu Leu Glu Leu Asn Thr Gln Arg Ile Ser Ser Ser

290

295

300

caa gcc act caa cct ctt gct acc cca gtc gtg tct gtg aca acc cca 960
Gln Ala Thr Gln Pro Leu Ala Thr Pro Val Val Ser Val Thr Thr Pro

305

310

315

320

agc ttg cct ccg caa gga ctt gtg tac tca gca atg ccg act gcc tac 1008
Ser Leu Pro Pro Gln Gly Leu Val Tyr Ser Ala Met Pro Thr Ala Tyr

325 330 335

aac act gat tat tca ctg acc agc gct gac ctg tca gcc ctt caa ggc 1056
Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ser Ala Asp Leu Ser Ala Leu Gln Gly

340 345 350

ttc aac tcg cca gga atg ctg tcg ctg gga cag gtg tcg gcc tgg cag 1104
Phe Asn Ser Pro Gly Met Leu Ser Leu Gly Gln Val Ser Ala Trp Gln

355 360 365

cag cac cac cta gga caa gca gcc ctc agc tct ctt gtt gct gga ggc 1152
Gln His His Leu Gly Gln Ala Ala Leu Ser Ser Leu Val Ala Gly Gly

370 375 380

cag tta tct cag ggt tcc aat tta tcc att aat acc aac caa aac atc 1200
Gln Leu Ser Gln Gly Ser Asn Leu Ser Ile Asn Thr Asn Gln Asn Ile

385 390 395 400

agc atc aag tcc gaa ccg att tca cct cct cgg gat cgt atg acc cca 1248
Ser Ile Lys Ser Glu Pro Ile Ser Pro Pro Arg Asp Arg Met Thr Pro

405 410 415

tcg ggc ttc cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag ccg ccg 1296
Ser Gly Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro

420 425 430

cca cca ccg cag ccc cag cca caa ccc ccg cag ccc cag ccc cga cag 1344

Pro Pro Pro Gln Pro Gln Pro Gln Pro Pro Gln Pro Gln Pro Arg Gln

435

440

445

gaa atg ggg cgc tcc cct gtg gac agt ctg agc agc tct agt agc tcc 1392

Glu Met Gly Arg Ser Pro Val Asp Ser Leu Ser Ser Ser Ser Ser Ser

450

455

460

tat gat ggc agt gat cgg gag gat cca cgg ggc gac ttc cat tct cca 1440

Tyr Asp Gly Ser Asp Arg Glu Asp Pro Arg Gly Asp Phe His Ser Pro

465

470

475

480

att gtg ctt ggc cga ccc cca aac act gag gac aga gaa agc cct tct 1488

Ile Val Leu Gly Arg Pro Pro Asn Thr Glu Asp Arg Glu Ser Pro Ser

485

490

495

gta aag cga atg agg atg gac gcg tgg gtg acc

1521

Val Lys Arg Met Arg Met Asp Ala Trp Val Thr

500

505

【 0 1 4 8 】

<210> 15

<211> 365

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Ser Arg Ile Leu Asp Gln Arg Asn

1	5	10	15
Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala			
20	25	30	
Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe			
35	40	45	
Asn Ser Ala Asn Arg Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Arg			
50	55	60	
Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Ser Glu Pro His Glu Ser Arg Thr			
65	70	75	80
Asn Thr Asp Ile Leu Glu Thr Leu Lys Arg Arg Gly Ile Gly Leu Asp			
85	90	95	
Gly Pro Glu Leu Glu Pro Asp Glu Gly Pro Glu Glu Pro Gly Glu Lys			
100	105	110	
Phe Arg Arg Leu Ala Gly Glu Gly Gly Asp Pro Ala Leu Pro Arg Pro			
115	120	125	
Arg Leu Tyr Pro Ala Ala Pro Ala Met Pro Ser Pro Asp Val Val Tyr			
130	135	140	
Gly Ala Leu Pro Pro Pro Gly Cys Asp Pro Ser Gly Leu Gly Glu Ala			
145	150	155	160

Leu Pro Ala Gln Ser Arg Pro Ser Pro Phe Arg Pro Ala Ala Pro Lys
165 170 175

Ala Gly Pro Pro Gly Leu Val His Pro Leu Phe Ser Pro Ser His Leu
180 185 190

Thr Ser Lys Thr Pro Pro Pro Leu Tyr Leu Pro Thr Glu Gly Arg Arg
195 200 205

Ser Asp Leu Pro Gly Gly Leu Ala Gly Pro Arg Gly Gly Leu Asn Thr
210 215 220

Ser Arg Ser Leu Tyr Ser Gly Leu Gln Asn Pro Cys Ser Thr Ala Thr
225 230 235 240

Pro Gly Pro Pro Leu Gly Ser Phe Pro Phe Leu Pro Gly Gly Pro Pro
245 250 255

Val Gly Ala Glu Ala Trp Ala Arg Arg Val Pro Gln Pro Ala Ala Pro
260 265 270

Pro Arg Arg Pro Pro Gln Ser Ala Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Arg
275 280 285

Pro Pro Gly Ala Pro Ala Thr Phe Leu Arg Pro Ser Pro Ile Pro Cys
290 295 300

Ser Ser Pro Gly Pro Trp Gln Ser Leu Cys Gly Leu Gly Pro Pro Cys
305 310 315 320

Ala Gly Cys Pro Trp Pro Thr Ala Gly Pro Gly Arg Arg Ser Pro Gly

325

330

335

Gly Thr Ser Pro Glu Arg Ser Pro Gly Thr Ala Arg Ala Arg Gly Asp

340

345

350

Pro Thr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Glu Lys Thr Gln Gln

355

360

【 0 1 4 9 】

<210> 16

<211> 1095

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1098)

<400> 16

atg ggg agg aaa aaa atc cag atc tcc cgc atc ctg gac caa agg aat 48

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Ser Arg Ile Leu Asp Gln Arg Asn

1

5

10

15

cgg cag gtg acg ttc acc aag cgg aag ttc ggg ctg atg aag aag gcc 96

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20	25	30	
tat gag ctg agc gtg ctc tgt gac tgt gag ata gcc ctc atc atc ttc			144
Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe			
35	40	45	
aac agc gcc aac cgc ctc ttc cag tat gcc agc acg gac atg gac cgt			192
Asn Ser Ala Asn Arg Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Arg			
50	55	60	
gtg ctg ctg aag tac aca gag tac agc gag ccc cac gag agc cgc acc			240
Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Ser Glu Pro His Glu Ser Arg Thr			
65	70	75	80
aac act gac atc ctc gag acg ctg aag cgg agg ggc att ggc ctc gat			288
Asn Thr Asp Ile Leu Glu Thr Leu Lys Arg Arg Gly Ile Gly Leu Asp			
85	90	95	
ggg cca gag ctg gag ccg gat gaa ggg cct gag gag cca gga gag aag			336
Gly Pro Glu Leu Glu Pro Asp Glu Gly Pro Glu Glu Pro Gly Glu Lys			
100	105	110	
ttt cgg agg ctg gca ggc gaa ggg ggt gat ccg gcc ttg ccc cga ccc			384
Phe Arg Arg Leu Ala Gly Glu Gly Gly Asp Pro Ala Leu Pro Arg Pro			
115	120	125	
cgg ctg tat cct gca gct cct gct atg ccc agc cca gat gtg gta tac			432
Arg Leu Tyr Pro Ala Ala Pro Ala Met Pro Ser Pro Asp Val Val Tyr			
130	135	140	

ggg gcc tta ccg cca cca ggc tgt gac ccc agt ggg ctt ggg gaa gca 480

Gly Ala Leu Pro Pro Pro Gly Cys Asp Pro Ser Gly Leu Gly Glu Ala

145 150 155 160

ctg ccc gcc cag agc cgc cca tct ccc ttc cga cca gca gcc ccc aaa 528

Leu Pro Ala Gln Ser Arg Pro Ser Pro Phe Arg Pro Ala Ala Pro Lys

165 170 175

gcc ggg ccc cca ggc ctg gtg cac cct ctc ttc tca cca agc cac ctc 576

Ala Gly Pro Pro Gly Leu Val His Pro Leu Phe Ser Pro Ser His Leu

180 185 190

acc agc aag aca cca ccc cca ctg tac ctg ccg acg gaa ggg cgg agg 624

Thr Ser Lys Thr Pro Pro Pro Leu Tyr Leu Pro Thr Glu Gly Arg Arg

195 200 205

tca gac ctg cct ggt ggc ctg gct ggg ccc cga ggg gga cta aac acc 672

Ser Asp Leu Pro Gly Gly Leu Ala Gly Pro Arg Gly Gly Leu Asn Thr

210 215 220

tcc aga agc ctc tac agt ggc ctg cag aac ccc tgc tcc act gca act 720

Ser Arg Ser Leu Tyr Ser Gly Leu Gln Asn Pro Cys Ser Thr Ala Thr

225 230 235 240

ccc gga ccc cca ctg ggg agc ttc ccc ttc ctc ccc gga ggc ccc cca 768

Pro Gly Pro Pro Leu Gly Ser Phe Pro Phe Leu Pro Gly Gly Pro Pro

245 250 255

gtg ggg gcc gaa gcc tgg gcg agg agg gtc ccc caa ccc gcg gcg cct 816

Val Gly Ala Glu Ala Trp Ala Arg Arg Val Pro Gln Pro Ala Ala Pro

260

265

270

ccc cgc cga ccc ccc cag tca gca tca agt ctg agc gcc tct ctc cgg 864

Pro Arg Arg Pro Pro Gln Ser Ala Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Arg

275

280

285

ccc ccg ggg gcc ccg gcg act ttc cta aga cct tcc cct atc cct tgc 912

Pro Pro Gly Ala Pro Ala Thr Phe Leu Arg Pro Ser Pro Ile Pro Cys

290

295

300

tcc tcg ccc ggt ccc tgg cag agc ctc tgc ggc ctg ggc ccg ccc tgc 960

Ser Ser Pro Gly Pro Trp Gln Ser Leu Cys Gly Leu Gly Pro Pro Cys

305

310

315

320

gcc ggc tgc cct tgg ccg acg gct ggc ccc ggt agg aga tca ccc ggt 1008

Ala Gly Cys Pro Trp Pro Thr Ala Gly Pro Gly Arg Arg Ser Pro Gly

325

330

335

ggc acc agc cca gag cgc tcg cca ggt acg gcg agg gca cgt ggg gac 1056

Gly Thr Ser Pro Glu Arg Ser Pro Gly Thr Ala Arg Ala Arg Gly Asp

340

345

350

ccc acc tcc ctc cag gcc tct tca gag aag acc caa cag 1095

Pro Thr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Glu Lys Thr Gln Gln

355

360

365

【 0 1 5 0 】

<210> 17

<211> 465

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Thr Arg Ile Met Asp Glu Arg Asn

1

5

10

15

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20

25

30

Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe

35

40

45

Asn Ser Thr Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys

50

55

60

Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr

65

70

75

80

Asn Ser Asp Ile Val Glu Thr Leu Arg Lys Lys Gly Leu Asn Gly Cys

85

90

95

Asp Ser Pro Asp Pro Asp Ala Asp Asp Ser Val Gly His Ser Pro Glu

100

105

110

Ser Glu Asp Lys Tyr Arg Lys Ile Asn Glu Asp Ile Asp Leu Met Ile

115

120

125

Ser Arg Gln Arg Leu Cys Ala Val Pro Pro Pro Asn Phe Glu Met Pro

130

135

140

Val Ser Ile Pro Val Ser Ser His Asn Ser Leu Val Tyr Ser Asn Pro

145

150

155

160

Val Ser Ser Leu Gly Asn Pro Asn Leu Leu Pro Leu Ala His Pro Ser

165

170

175

Leu Gln Arg Asn Ser Met Ser Pro Gly Val Thr His Arg Pro Pro Ser

180

185

190

Ala Gly Asn Thr Gly Gly Leu Met Gly Gly Asp Leu Thr Ser Gly Ala

195

200

205

Gly Thr Ser Ala Gly Asn Gly Tyr Gly Asn Pro Arg Asn Ser Pro Gly

210

215

220

Leu Leu Val Ser Pro Gly Asn Leu Asn Lys Asn Met Gln Ala Lys Ser

225

230

235

240

Pro Pro Pro Met Asn Leu Gly Met Asn Asn Arg Lys Pro Asp Leu Arg

245

250

255

Val Leu Ile Pro Pro Gly Ser Lys Asn Thr Met Pro Ser Val Asn Gln

260

265

270

Arg Ile Asn Asn Ser Gln Ser Ala Gln Ser Leu Ala Thr Pro Val Val
275 280 285

Ser Val Ala Thr Pro Thr Leu Pro Gly Gln Gly Met Gly Gly Tyr Pro
290 295 300

Ser Ala Ile Ser Thr Thr Tyr Gly Thr Glu Tyr Ser Leu Ser Ser Ala
305 310 315 320

Asp Leu Ser Ser Leu Ser Gly Phe Asn Thr Ala Ser Ala Leu His Leu
325 330 335

Gly Ser Val Thr Gly Trp Gln Gln Gln His Leu His Asn Met Pro Pro
340 345 350

Ser Ala Leu Ser Gln Leu Gly Ala Cys Thr Ser Thr His Leu Ser Gln
355 360 365

Ser Ser Asn Leu Ser Leu Pro Ser Thr Gln Ser Leu Asn Ile Lys Ser
370 375 380

Glu Pro Val Ser Pro Pro Arg Asp Arg Thr Thr Thr Pro Ser Arg Tyr
385 390 395 400

Pro Gln His Thr Arg His Glu Ala Gly Arg Ser Pro Val Asp Ser Leu
405 410 415

Ser Ser Cys Ser Ser Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Arg Glu Asp His Arg

420

425

430

Asn Glu Phe His Ser Pro Ile Gly Leu Thr Arg Pro Ser Pro Asp Glu

435

440

445

Arg Glu Ser Pro Ser Val Lys Arg Met Arg Leu Ser Glu Gly Trp Ala

450

455

460

Thr

【 0 1 5 1 】

<210> 18

<211> 1395

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1398)

<400> 18

atg ggg aga aaa aag att cag att acg agg att atg gat gaa cgt aac 48

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Thr Arg Ile Met Asp Glu Arg Asn

1

5

10

15

aga cag gtg aca ttt aca aag agg aaa ttt ggg ttg atg aag aag gct 96

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20	25	30	
tat gag ctg agc gtg ctg tgt gac tgt gag att gcg ctg atc atc ttc			144
Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe			
35	40	45	
aac agc acc aac aag ctg ttc cag tat gcc agc acc gac atg gac aaa			192
Asn Ser Thr Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys			
50	55	60	
gtg ctt ctc aag tac acg gag tac aac gag ccg cat gag agc cgg aca			240
Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr			
65	70	75	80
aac tca gac atc gtg gag acg ttg aga aag aag ggc ctt aat ggc tgt			288
Asn Ser Asp Ile Val Glu Thr Leu Arg Lys Lys Gly Leu Asn Gly Cys			
85	90	95	
gac agc cca gac ccc gat gcg gac gat tcc gta ggt cac agc cct gag			336
Asp Ser Pro Asp Pro Asp Ala Asp Asp Ser Val Gly His Ser Pro Glu			
100	105	110	
tct gag gac aag tac agg aaa att aac gaa gat att gat cta atg atc			384
Ser Glu Asp Lys Tyr Arg Lys Ile Asn Glu Asp Ile Asp Leu Met Ile			
115	120	125	
agc agg caa aga ttg tgt gct gtt cca cct ccc aac ttc gag atg cca			432
Ser Arg Gln Arg Leu Cys Ala Val Pro Pro Pro Asn Phe Glu Met Pro			
130	135	140	

gtc tcc atc cca gtg tcc agc cac aac agt ttg gtg tac agc aac cct 480
 Val Ser Ile Pro Val Ser Ser His Asn Ser Leu Val Tyr Ser Asn Pro
 145 150 155 160

gtc agc tca ctg gga aac ccc aac cta ttg cca ctg gct cac cct tct 528
 Val Ser Ser Leu Gly Asn Pro Asn Leu Leu Pro Leu Ala His Pro Ser
 165 170 175

ctg cag agg aat agt atg tct cct ggt gta aca cat cga cct cca agt 576
 Leu Gln Arg Asn Ser Met Ser Pro Gly Val Thr His Arg Pro Pro Ser
 180 185 190

gca ggt aac aca ggt ggt ctg atg ggt gga gac ctc acg tct ggt gca 624
 Ala Gly Asn Thr Gly Gly Leu Met Gly Gly Asp Leu Thr Ser Gly Ala
 195 200 205

ggc acc agt gca ggg aac ggg tat ggc aat ccc cga aac tca cca ggt 672
 Gly Thr Ser Ala Gly Asn Gly Tyr Gly Asn Pro Arg Asn Ser Pro Gly
 210 215 220

ctg ctg gtc tca cct ggt aac ttg aac aag aat atg caa gca aaa tct 720
 Leu Leu Val Ser Pro Gly Asn Leu Asn Lys Asn Met Gln Ala Lys Ser
 225 230 235 240

cct ccc cca atg aat tta gga atg aat aac cgt aaa cca gat ctc cga 768
 Pro Pro Pro Met Asn Leu Gly Met Asn Asn Arg Lys Pro Asp Leu Arg
 245 250 255

gtt ctt att cca cca ggc agc aag aat acg atg cca tca gtg aat caa 816

Val Leu Ile Pro Pro Gly Ser Lys Asn Thr Met Pro Ser Val Asn Gln

260

265

270

agg ata aat aac tcc cag tcg gct cag tca ttg gct acc cca gtg gtt 864

Arg Ile Asn Asn Ser Gln Ser Ala Gln Ser Leu Ala Thr Pro Val Val

275

280

285

tcc gta gca act cct act tta cca gga caa gga atg gga gga tat cca 912

Ser Val Ala Thr Pro Thr Leu Pro Gly Gln Gly Met Gly Gly Tyr Pro

290

295

300

tca gcc att tca aca aca tat ggt acc gag tac tct ctg agt agt gca 960

Ser Ala Ile Ser Thr Thr Tyr Gly Thr Glu Tyr Ser Leu Ser Ser Ala

305

310

315

320

gac ctg tca tct ctg tct ggg ttt aac acc gcc agc gct ctt cac ctt 1008

Asp Leu Ser Ser Leu Ser Gly Phe Asn Thr Ala Ser Ala Leu His Leu

325

330

335

ggt tca gta act ggc tgg caa cag caa cac cta cat aac atg cca cca 1056

Gly Ser Val Thr Gly Trp Gln Gln Gln His Leu His Asn Met Pro Pro

340

345

350

tct gcc ctc agt cag ttg gga gct tgc act agc act cat tta tct cag 1104

Ser Ala Leu Ser Gln Leu Gly Ala Cys Thr Ser Thr His Leu Ser Gln

355

360

365

agt tca aat ctc tcc ctg cct tct act caa agc ctc aac atc aag tca 1152

Ser Ser Asn Leu Ser Leu Pro Ser Thr Gln Ser Leu Asn Ile Lys Ser

370

375

380

gaa cct gtt tct cct cct aga gac cgt acc acc acc cct tcg aga tac 1200

Glu Pro Val Ser Pro Pro Arg Asp Arg Thr Thr Thr Pro Ser Arg Tyr

385

390

395

400

cca caa cac acg cgc cac gag gcg ggg aga tct cct gtt gac agc ttg 1248

Pro Gln His Thr Arg His Glu Ala Gly Arg Ser Pro Val Asp Ser Leu

405

410

415

agc agc tgt agc agt tcg tac gac ggg agc gac cga gag gat cac cgg 1296

Ser Ser Cys Ser Ser Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Arg Glu Asp His Arg

420

425

430

aac gaa ttc cac tcc ccc att gga ctc acc aga cct tcg ccg gac gaa 1344

Asn Glu Phe His Ser Pro Ile Gly Leu Thr Arg Pro Ser Pro Asp Glu

435

440

445

agg gaa agt ccc tca gtc aag cgc atg cga ctt tct gaa gga tgg gca 1392

Arg Glu Ser Pro Ser Val Lys Arg Met Arg Leu Ser Glu Gly Trp Ala

450

455

460

aca

1395

Thr

465

【0 1 5 2】

<210> 19

<211> 521

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ile Thr Asp Glu Arg Asn

1 5 10 15

Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala

20 25 30

Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe

35 40 45

Asn His Ser Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys

50 55 60

Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr

65 70 75 80

Asn Ala Asp Ile Ile Glu Thr Leu Arg Lys Lys Gly Phe Asn Gly Cys

85 90 95

Asp Ser Pro Glu Pro Asp Gly Glu Asp Ser Leu Glu Gln Ser Pro Leu

100 105 110

Leu Glu Asp Lys Tyr Arg Arg Ala Ser Glu Glu Leu Asp Gly Leu Phe

115

120

125

Arg Arg Tyr Gly Ser Thr Val Pro Ala Pro Asn Phe Ala Met Pro Val

130

135

140

Thr Val Pro Val Ser Asn Gln Ser Ser Leu Gln Phe Ser Asn Pro Ser

145

150

155

160

Gly Ser Leu Val Thr Pro Ser Leu Val Thr Ser Ser Leu Thr Asp Pro

165

170

175

Arg Leu Leu Ser Pro Gln Gln Pro Ala Leu Gln Arg Asn Ser Val Ser

180

185

190

Pro Gly Leu Pro Gln Arg Pro Ala Ser Ala Gly Ala Met Leu Gly Gly

195

200

205

Asp Leu Asn Ser Ala Asn Gly Ala Cys Pro Ser Pro Val Gly Asn Gly

210

215

220

Tyr Val Ser Ala Arg Ala Ser Pro Gly Leu Leu Pro Val Ala Asn Gly

225

230

235

240

Asn Ser Leu Asn Lys Val Ile Pro Ala Lys Ser Pro Pro Pro Pro Thr

245

250

255

His Ser Thr Gln Leu Gly Ala Pro Ser Arg Lys Pro Asp Leu Arg Val

260

265

270

Ile Thr Ser Gln Ala Gly Lys Gly Leu Met His His Leu Thr Glu Asp
275 280 285

His Leu Asp Leu Asn Asn Ala Gln Arg Leu Gly Val Ser Gln Ser Thr
290 295 300

His Ser Leu Thr Thr Pro Val Val Ser Val Ala Thr Pro Ser Leu Leu
305 310 315 320

Ser Gln Gly Leu Pro Phe Ser Ser Met Pro Thr Ala Tyr Asn Thr Asp
325 330 335

Tyr Gln Leu Thr Ser Ala Glu Leu Ser Ser Leu Pro Ala Phe Ser Ser
340 345 350

Pro Gly Gly Leu Ser Leu Gly Asn Val Thr Ala Trp Gln Gln Pro Gln
355 360 365

Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gln Pro Pro Gln Gln Gln Pro Pro
370 375 380

Gln Pro Gln Gln Pro Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro
385 390 395 400

Pro Gln Gln Gln Ser His Leu Val Pro Val Ser Leu Ser Asn Leu Ile
405 410 415

Pro Gly Ser Pro Leu Pro His Val Gly Ala Ala Leu Thr Val Thr Thr
420 425 430

His Pro His Ile Ser Ile Lys Ser Glu Pro Val Ser Pro Ser Arg Glu

435

440

445

Arg Ser Pro Ala Pro Pro Pro Pro Ala Val Phe Pro Ala Ala Arg Pro

450

455

460

Glu Pro Gly Asp Gly Leu Ser Ser Pro Ala Gly Gly Ser Tyr Glu Thr

465

470

475

480

Gly Asp Arg Asp Asp Gly Arg Gly Asp Phe Gly Pro Thr Leu Gly Leu

485

490

495

Leu Arg Pro Ala Pro Glu Pro Glu Ala Glu Gly Ser Ala Val Lys Arg

500

505

510

Met Arg Leu Asp Thr Trp Thr Leu Lys

515

520

【 0 1 5 3 】

<210> 20

<211> 1563

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1566)

<400> 20

atg ggg agg aaa aag att cag atc cag cga atc acc gac gag cgg aac	48
Met Gly Arg Lys Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ile Thr Asp Glu Arg Asn	
1 5 10 15	
cga cag gtg act ttc acc aag cgg aag ttt ggc ctg atg aag aag gcg	96
Arg Gln Val Thr Phe Thr Lys Arg Lys Phe Gly Leu Met Lys Lys Ala	
20 25 30	
tat gag ctg agc gtg cta tgt gac tgc gag atc gca ctc atc atc ttc	144
Tyr Glu Leu Ser Val Leu Cys Asp Cys Glu Ile Ala Leu Ile Ile Phe	
35 40 45	
aac cac tcc aac aag ctg ttc cag tac gcc agc acc gac atg gac aag	192
Asn His Ser Asn Lys Leu Phe Gln Tyr Ala Ser Thr Asp Met Asp Lys	
50 55 60	
gtg ctg ctc aag tac acg gag tac aat gag cca cac gag agc cgc acc	240
Val Leu Leu Lys Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Pro His Glu Ser Arg Thr	
65 70 75 80	
aac gcc gac atc atc gag acc ctg agg aag aag ggc ttc aat ggc tgc	288
Asn Ala Asp Ile Ile Glu Thr Leu Arg Lys Lys Gly Phe Asn Gly Cys	
85 90 95	
gac agc ccc gag ccc gac ggg gag gac tcg ctg gaa cag agc ccc ctg	336
Asp Ser Pro Glu Pro Asp Gly Glu Asp Ser Leu Glu Gln Ser Pro Leu	

100	105	110	
ctg gag gac aag tac cga cgc gcc agc gag gag ctc gac ggg ctc ttc			384
Leu Glu Asp Lys Tyr Arg Arg Ala Ser Glu Glu Leu Asp Gly Leu Phe			
115	120	125	
cgg cgc tat ggg tca act gtc ccg gcc ccc aac ttt gcc atg cct gtc			432
Arg Arg Tyr Gly Ser Thr Val Pro Ala Pro Asn Phe Ala Met Pro Val			
130	135	140	
acg gtg ccc gtg tcc aat cag agc tca ctg cag ttc agc aat ccc agc			480
Thr Val Pro Val Ser Asn Gln Ser Ser Leu Gln Phe Ser Asn Pro Ser			
145	150	155	160
ggc tcc ctg gtc acc cct tcc ctg gtg aca tca tcc ctc acg gac ccg			528
Gly Ser Leu Val Thr Pro Ser Leu Val Thr Ser Ser Leu Thr Asp Pro			
165	170	175	
cgg ctc ctg tcc ccc cag cag cca gca cta cag agg aac agt gtg tct			576
Arg Leu Leu Ser Pro Gln Gln Pro Ala Leu Gln Arg Asn Ser Val Ser			
180	185	190	
cct ggc ctg ccc cag cgg cca gct agt gcg ggg gcc atg ctg ggg ggt			624
Pro Gly Leu Pro Gln Arg Pro Ala Ser Ala Gly Ala Met Leu Gly Gly			
195	200	205	
gac ctg aac agt gct aac gga gcc tgc ccc agc cct gtt ggg aat ggc			672
Asp Leu Asn Ser Ala Asn Gly Ala Cys Pro Ser Pro Val Gly Asn Gly			
210	215	220	

tac gtc agt gct cgg gct tcc cct ggc ctc ctc cct gtg gcc aat ggc 720

Tyr Val Ser Ala Arg Ala Ser Pro Gly Leu Leu Pro Val Ala Asn Gly

225 230 235 240

aac agc cta aac aag gtc atc cct gcc aag tct ccg ccc cca cct acc 768

Asn Ser Leu Asn Lys Val Ile Pro Ala Lys Ser Pro Pro Pro Pro Thr

245 250 255

cac agc acc cag ctt gga gcc ccc agc cgc aag ccc gac ctg cga gtc 816

His Ser Thr Gln Leu Gly Ala Pro Ser Arg Lys Pro Asp Leu Arg Val

260 265 270

atc act tcc cag gca gga aag ggg tta atg cat cac ttg act gag gac 864

Ile Thr Ser Gln Ala Gly Lys Gly Leu Met His His Leu Thr Glu Asp

275 280 285

cat tta gat ctg aac aat gcc cag cgc ctt ggg gtc tcc cag tct act 912

His Leu Asp Leu Asn Asn Ala Gln Arg Leu Gly Val Ser Gln Ser Thr

290 295 300

cat tcg ctc acc acc cca gtg gtt tct gtg gca acg ccg agt tta ctc 960

His Ser Leu Thr Thr Pro Val Val Ser Val Ala Thr Pro Ser Leu Leu

305 310 315 320

agc cag ggc ctc ccc ttc tct tcc atg ccc act gcc tac aac aca gat 1008

Ser Gln Gly Leu Pro Phe Ser Ser Met Pro Thr Ala Tyr Asn Thr Asp

325 330 335

tac cag ttg acc agt gca gag ctc tcc tcc tta cca gcc ttt agt tca 1056
Tyr Gln Leu Thr Ser Ala Glu Leu Ser Ser Leu Pro Ala Phe Ser Ser
340 345 350

cct ggg ggg ctg tct cta ggc aat gtc act gcc tgg caa cag cca cag 1104
Pro Gly Gly Leu Ser Leu Gly Asn Val Thr Ala Trp Gln Gln Pro Gln
355 360 365

cag ccc cag cag ccg cag cag cca cag cct cca cag cag cag cca ccg 1152
Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gln Pro Pro Gln Gln Gln Pro Pro
370 375 380

cag cca cag cag cca cag cca cag cag cct cag cag ccg caa cag cca 1200
Gln Pro Gln Gln Pro Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro
385 390 395 400

cct cag caa cag tcc cac ctg gtc cct gta tct ctc agc aac ctc atc 1248
Pro Gln Gln Gln Ser His Leu Val Pro Val Ser Leu Ser Asn Leu Ile
405 410 415

ccg ggc agc ccc ctg ccc cac gtg ggt gct gcc ctc aca gtc acc acc 1296
Pro Gly Ser Pro Leu Pro His Val Gly Ala Ala Leu Thr Val Thr Thr
420 425 430

cac ccc cac atc agc atc aag tca gaa ccg gtg tcc cca agc cgt gag 1344
His Pro His Ile Ser Ile Lys Ser Glu Pro Val Ser Pro Ser Arg Glu
435 440 445

cgc agc cct gcg cct ccc cct cca gct gtg ttc cca gct gcc cgc cct 1392

Arg Ser Pro Ala Pro Pro Pro Pro Ala Val Phe Pro Ala Ala Arg Pro

450

455

460

gag cct ggc gat ggt ctc agc agc cca gcc ggg gga tcc tat gag acg 1440

Glu Pro Gly Asp Gly Leu Ser Ser Pro Ala Gly Gly Ser Tyr Glu Thr

465

470

475

480

gga gac cgg gat gac gga cgg ggg gac ttc ggg ccc aca ctg ggc ctg 1488

Gly Asp Arg Asp Asp Gly Arg Gly Asp Phe Gly Pro Thr Leu Gly Leu

485

490

495

ctg cgc cca gcc cca gag cct gag gct gag ggc tca gct gtg aag agg 1536

Leu Arg Pro Ala Pro Glu Pro Glu Ala Glu Gly Ser Ala Val Lys Arg

500

505

510

atg cgg ctt gat acc tgg aca tta aag

1563

Met Arg Leu Asp Thr Trp Thr Leu Lys

515

520

【0 1 5 4】

<210> 21

<211> 217

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 21

Met Ser Leu Val Gly Gly Phe Pro His His Pro Val Val His His Glu

1

5

10

15

Gly Tyr Pro Phe Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

20

25

30

Ser Arg Cys Ser His Glu Glu Asn Pro Tyr Phe His Gly Trp Leu Ile

35

40

45

Gly His Pro Glu Met Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Met Ala Leu Ser Tyr

50

55

60

Ser Pro Glu Tyr Ala Ser Gly Ala Ala Gly Leu Asp His Ser His Tyr

65

70

75

80

Gly Gly Val Pro Pro Gly Ala Gly Pro Pro Gly Leu Gly Gly Pro Arg

85

90

95

Pro Val Lys Arg Arg Gly Thr Ala Asn Arg Lys Glu Arg Arg Arg Thr

100

105

110

Gln Ser Ile Asn Ser Ala Phe Ala Glu Leu Arg Glu Cys Ile Pro Asn

115

120

125

Val Pro Ala Asp Thr Lys Leu Ser Lys Ile Lys Thr Leu Arg Leu Ala

130

135

140

Thr Ser Tyr Ile Ala Tyr Leu Met Asp Leu Leu Ala Lys Asp Asp Gln

145

150

155

160

Asn Gly Glu Ala Glu Ala Phe Lys Ala Glu Ile Lys Lys Thr Asp Val

165

170

175

Lys Glu Glu Lys Arg Lys Lys Glu Leu Asn Glu Ile Leu Lys Ser Thr

180

185

190

Val Ser Ser Asn Asp Lys Lys Thr Lys Gly Arg Thr Gly Trp Pro Gln

195

200

205

His Val Trp Ala Leu Glu Leu Lys Gln

210

215

【 0 1 5 5 】

<210> 22

<211> 651

<212> DNA

<213> *Rattus norvegicus*

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(654)

<400> 22

atg agt ctg gtg ggg ggc ttt ccc cac cac ccc gtg gtg cac cat gag 48

Met Ser Leu Val Gly Gly Phe Pro His His Pro Val Val His His Glu

1

5

10

15

ggc tac ccg ttc gcc gca gcc gca gcc gcc gct gct gct gcc gcc gcc 96

Gly Tyr Pro Phe Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

20

25

30

agc cgc tgc agt cac gag gag aac ccc tat ttc cac ggc tgg ctt att 144

Ser Arg Cys Ser His Glu Glu Asn Pro Tyr Phe His Gly Trp Leu Ile

35

40

45

ggc cac ccg gag atg tcg ccc ccc gac tac agc atg gcc ctg tcc tac 192

Gly His Pro Glu Met Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Met Ala Leu Ser Tyr

50

55

60

agt ccc gag tac gcc agc ggt gcc gcg ggc ctg gac cac tcc cat tat 240

Ser Pro Glu Tyr Ala Ser Gly Ala Ala Gly Leu Asp His Ser His Tyr

65

70

75

80

ggg gga gtg ccg ccc ggt gcc ggg cct ccc ggc ctg ggg ggg ccg cgc 288

Gly Gly Val Pro Pro Gly Ala Gly Pro Pro Gly Leu Gly Gly Pro Arg

85

90

95

ccg gtg aag cgt cgg ggc acc gcc aac cgc aag gag cgg cgc agg act 336

Pro Val Lys Arg Arg Gly Thr Ala Asn Arg Lys Glu Arg Arg Arg Thr

100

105

110

cag agc atc aac agc gcc ttc gcc gag ctg cgc gag tgc atc ccc aac 384

Gln Ser Ile Asn Ser Ala Phe Ala Glu Leu Arg Glu Cys Ile Pro Asn

115

120

125

gtg ccc gcc gac acc aaa ctc tcc aaa atc aag act ctg cgc ctg gcc 432

Val Pro Ala Asp Thr Lys Leu Ser Lys Ile Lys Thr Leu Arg Leu Ala

130

135

140

acc agc tac atc gcc tac ctc atg gat ctg ctg gcc aag gac gac cag 480

Thr Ser Tyr Ile Ala Tyr Leu Met Asp Leu Leu Ala Lys Asp Asp Gln

145

150

155

160

aac gga gag gcg gag gcc ttc aag gcg gag atc aag aag acc gac gtg 528

Asn Gly Glu Ala Glu Ala Phe Lys Ala Glu Ile Lys Lys Thr Asp Val

165

170

175

aaa gag gag aag agg aag aaa gag ctg aat gaa atc ttg aaa agt aca 576

Lys Glu Glu Lys Arg Lys Lys Glu Leu Asn Glu Ile Leu Lys Ser Thr

180

185

190

gtg agc agc aac gac aag aaa acc aaa ggc cgg aca ggc tgg cca cag 624

Val Ser Ser Asn Asp Lys Lys Thr Lys Gly Arg Thr Gly Trp Pro Gln

195

200

205

cac gtc tgg gcc ctg gag ctc aag cag

651

His Val Trp Ala Leu Glu Leu Lys Gln

210

215

【0 1 5 6】

<210> 23

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Asn Leu Val Gly Ser Tyr Ala His His His His His His His Pro

1

5

10

15

His Pro Ala His Pro Met Leu His Glu Pro Phe Leu Phe Gly Pro Ala

20

25

30

Ser Arg Cys His Gln Glu Arg Pro Tyr Phe Gln Ser Trp Leu Leu Ser

35

40

45

Pro Ala Asp Ala Ala Pro Asp Phe Pro Ala Gly Gly Pro Pro Pro Ala

50

55

60

Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Tyr Gly Pro Asp Ala Arg Pro Gly Gln

65

70

75

80

Ser Pro Gly Arg Leu Glu Ala Leu Gly Gly Arg Leu Gly Arg Arg Lys

85

90

95

Gly Ser Gly Pro Lys Lys Glu Arg Arg Arg Thr Glu Ser Ile Asn Ser

100

105

110

Ala Phe Ala Glu Leu Arg Glu Cys Ile Pro Asn Val Pro Ala Asp Thr

115

120

125

Lys Leu Ser Lys Ile Lys Thr Leu Arg Leu Ala Thr Ser Tyr Ile Ala

130

135

140

Tyr Leu Met Asp Val Leu Ala Lys Asp Ala Gln Ser Gly Asp Pro Glu
145 150 155 160

Ala Phe Lys Ala Glu Leu Lys Lys Ala Asp Gly Gly Arg Glu Ser Lys
165 170 175

Arg Lys Arg Glu Leu Gln Gln His Glu Gly Phe Pro Pro Ala Leu Gly
180 185 190

Pro Val Glu Lys Arg Ile Lys Gly Arg Thr Gly Trp Pro Gln Gln Val
195 200 205

Trp Ala Leu Glu Leu Asn Gln
210

【 0 1 5 7 】

<210> 24

<211> 645

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(648)

<400> 24

atg aac ctc gtg ggc agc tac gca cac cat cac cac cat cac cac ccg 48

Met Asn Leu Val Gly Ser Tyr Ala His His His His His His His Pro

1

5

10

15

cac cct gcg cac ccc atg ctc cac gaa ccc ttc ctc ttc ggt ccg gcc 96

His Pro Ala His Pro Met Leu His Glu Pro Phe Leu Phe Gly Pro Ala

20

25

30

tcg cgc tgt cat cag gaa agg ccc tac ttc cag agc tgg ctg ctg agc 144

Ser Arg Cys His Gln Glu Arg Pro Tyr Phe Gln Ser Trp Leu Leu Ser

35

40

45

ccg gct gac gct gcc ccg gac ttc cct gcg ggc ggg ccg ccg ccc gcg 192

Pro Ala Asp Ala Ala Pro Asp Phe Pro Ala Gly Gly Pro Pro Pro Ala

50

55

60

gcc gct gca gcc gcc acc gcc tat ggt cct gac gcc agg cct ggg cag 240

Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Tyr Gly Pro Asp Ala Arg Pro Gly Gln

65

70

75

80

agc ccc ggg cgg ctg gag gcg ctt ggc ggc cgt ctt ggc cgg cgg aaa 288

Ser Pro Gly Arg Leu Glu Ala Leu Gly Gly Arg Leu Gly Arg Arg Lys

85

90

95

ggc tca gga ccc aag aag gag cgg aga cgc act gag agc att aac agc 336

Gly Ser Gly Pro Lys Lys Glu Arg Arg Arg Thr Glu Ser Ile Asn Ser

100

105

110

gca ttc gcg gag ttg cgc gag tgc atc ccc aac gtg ccg gcc gac acc 384

Ala Phe Ala Glu Leu Arg Glu Cys Ile Pro Asn Val Pro Ala Asp Thr

115

120

125

aag ctc tcc aag atc aag act ctg cgc cta gcc acc agc tac atc gcc 432

Lys Leu Ser Lys Ile Lys Thr Leu Arg Leu Ala Thr Ser Tyr Ile Ala

130

135

140

tac ctg atg gac gtg ctg gcc aag gat gca cag tct ggc gat ccc gag 480

Tyr Leu Met Asp Val Leu Ala Lys Asp Ala Gln Ser Gly Asp Pro Glu

145

150

155

160

gcc ttc aag gct gaa ctc aag aag gcg gat ggc ggc cgt gag agc aag 528

Ala Phe Lys Ala Glu Leu Lys Lys Ala Asp Gly Gly Arg Glu Ser Lys

165

170

175

cgg aaa agg gag ctg cag cag cac gaa ggt ttt cct cct gcc ctg ggc 576

Arg Lys Arg Glu Leu Gln Gln His Glu Gly Phe Pro Pro Ala Leu Gly

180

185

190

cca gtc gag aag agg att aaa gga cgc acc ggc tgg ccg cag caa gtc 624

Pro Val Glu Lys Arg Ile Lys Gly Arg Thr Gly Trp Pro Gln Gln Val

195

200

205

tgg gcg ctg gag tta aac cag 645

Trp Ala Leu Glu Leu Asn Gln

210

215

【0 1 5 8】

<210> 25

<211> 411

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Glu Arg Met Ser Asp Ser Ala Asp Lys Pro Ile Asp Asn Asp Ala

1 5 10 15

Glu Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu

20 25 30

Ala Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu

35 40 45

Gly Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu

50 55 60

Arg Thr Gly Lys Thr Arg Thr Arg Lys Gln Val Ser Ser His Ile Gln

65 70 75 80

Val Leu Ala Arg Arg Lys Ser Arg Asp Phe His Ser Lys Leu Lys Asp

85 90 95

Gln Thr Ala Lys Asp Lys Ala Leu Gln His Met Ala Ala Met Ser Ser

100 105 110

Ala Gln Ile Val Ser Ala Thr Ala Ile His Asn Lys Leu Gly Leu Pro

115	120	125
Gly Ile Pro Arg Pro Thr Phe Pro Gly Ala Pro Gly Phe Trp Pro Gly		
130	135	140
Met Ile Gln Thr Gly Gln Pro Gly Ser Ser Gln Asp Val Lys Pro Phe		
145	150	155
Val Gln Gln Ala Tyr Pro Ile Gln Pro Ala Val Thr Ala Pro Ile Pro		
165	170	175
Gly Phe Glu Pro Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ser Val Pro Ala Trp Gln		
180	185	190
Gly Arg Ser Ile Gly Thr Thr Lys Leu Arg Leu Val Glu Phe Ser Ala		
195	200	205
Phe Leu Glu Gln Gln Arg Asp Pro Asp Ser Tyr Asn Lys His Leu Phe		
210	215	220
Val His Ile Gly His Ala Asn His Ser Tyr Ser Asp Pro Leu Leu Glu		
225	230	235
Ser Val Asp Ile Arg Gln Ile Tyr Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly		
245	250	255
Gly Leu Lys Glu Leu Phe Gly Lys Gly Pro Gln Asn Ala Phe Phe Leu		
260	265	270

Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn Cys Asn Ile Gln Asp Asp Ala Gly
275 280 285

Ala Phe Tyr Gly Val Thr Ser Gln Tyr Glu Ser Ser Glu Asn Met Thr
290 295 300

Val Thr Cys Ser Thr Lys Val Cys Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu
305 310 315 320

Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg Phe Glu Asn Gly Arg Phe Val Tyr
325 330 335

Arg Ile Asn Arg Ser Pro Met Cys Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His
340 345 350

Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu
355 360 365

Asn Phe Thr Ile Leu Leu Val Val Thr Asn Arg Asp Thr Gln Glu Thr
370 375 380

Leu Leu Cys Met Ala Cys Val Phe Glu Val Ser Asn Ser Glu His Gly
385 390 395 400

Ala Gln His His Ile Tyr Arg Leu Val Lys Asp
405 410

【 0 1 5 9 】

<210> 26

<211> 1233

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1236)

<400> 26

atg gaa agg atg agt gac tct gca gat aag cca att gac aat gat gca 48

Met Glu Arg Met Ser Asp Ser Ala Asp Lys Pro Ile Asp Asn Asp Ala

1

5

10

15

gaa ggg gtc tgg agc ccc gac atc gag caa agc ttt cag gag gcc ctg 96

Glu Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu

20

25

30

gct atc tat cca cca tgt ggg agg agg aaa atc atc tta tca gac gaa 144

Ala Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu

35

40

45

ggc aaa atg tat ggt agg aat gaa ttg ata gcc aga tac atc aaa ctc 192

Gly Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu

50

55

60

agg aca ggc aag acg agg acc aga aaa cag gtg tct agt cac att cag 240

Arg Thr Gly Lys Thr Arg Thr Arg Lys Gln Val Ser Ser His Ile Gln

65	70	75	80	
g t t c t t g c c a g a a g g a a a t c t c g t g a t t t t c a t t c c a a g c t a a a g g a t				288
Val Leu Ala Arg Arg Lys Ser Arg Asp Phe His Ser Lys Leu Lys Asp				
	85	90	95	
c a g a c t g c a a a g g a t a a g g c c c t g c a g c a c a t g g c g g c c a t g t c c t c a				336
Gln Thr Ala Lys Asp Lys Ala Leu Gln His Met Ala Ala Met Ser Ser				
	100	105	110	
g c c c a g a t c g t c t c g g c c a c t g c c a t t c a t a a c a a g c t g g g g c t g c c t				384
Ala Gln Ile Val Ser Ala Thr Ala Ile His Asn Lys Leu Gly Leu Pro				
	115	120	125	
g g g a t t c c a c g c c c g a c c t t c c c a g g g g c g c c g g g g t t c t g g c c g g g a				432
Gly Ile Pro Arg Pro Thr Phe Pro Gly Ala Pro Gly Phe Trp Pro Gly				
	130	135	140	
a t g a t t c a a a c a g g g c a g c c a g g a t c c t c a c a a g a c g t c a a g c c t t t t				480
Met Ile Gln Thr Gly Gln Pro Gly Ser Ser Gln Asp Val Lys Pro Phe				
145	150	155	160	
g t g c a g c a g g c c t a c c c c a t c c a g c c a g c g g t c a c a g c c c c a t t c c a				528
Val Gln Gln Ala Tyr Pro Ile Gln Pro Ala Val Thr Ala Pro Ile Pro				
	165	170	175	
g g g t t t g a g c c t g c a t c g g c c c a g c t c c c t c a g t c c c t g c c t g g c a a				576
Gly Phe Glu Pro Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ser Val Pro Ala Trp Gln				
	180	185	190	

ggt cgc tcc att ggc aca acc aag ctt cgc ctg gtg gaa ttt tca gct 624
Gly Arg Ser Ile Gly Thr Thr Lys Leu Arg Leu Val Glu Phe Ser Ala

195

200

205

ttt ctc gag cag cag cga gac cca gac tcg tac aac aaa cac ctc ttc 672
Phe Leu Glu Gln Gln Arg Asp Pro Asp Ser Tyr Asn Lys His Leu Phe

210

215

220

gtg cac att ggg cat gcc aac cat tct tac agt gac cca ttg ctt gaa 720
Val His Ile Gly His Ala Asn His Ser Tyr Ser Asp Pro Leu Leu Glu

225

230

235

240

tca gtg gac att cgt cag att tat gac aaa ttt cct gaa aag aaa ggt 768
Ser Val Asp Ile Arg Gln Ile Tyr Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly

245

250

255

ggc tta aag gaa ctg ttt gga aag ggc cct caa aat gcc ttc ttc ctc 816
Gly Leu Lys Glu Leu Phe Gly Lys Gly Pro Gln Asn Ala Phe Phe Leu

260

265

270

gta aaa ttc tgg gct gat tta aac tgc aat att caa gat gat gct ggg 864
Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn Cys Asn Ile Gln Asp Asp Ala Gly

275

280

285

gct ttt tat ggt gta acc agt cag tac gag agt tct gaa aat atg aca 912
Ala Phe Tyr Gly Val Thr Ser Gln Tyr Glu Ser Ser Glu Asn Met Thr

290

295

300

gtc acc tgt tcc acc aaa gtt tgc tcc ttt ggg aag caa gta gta gaa 960
 Val Thr Cys Ser Thr Lys Val Cys Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu
 305 310 315 320

aaa gta gag acg gag tat gca agg ttt gag aat ggc cga ttt gta tac 1008
 Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg Phe Glu Asn Gly Arg Phe Val Tyr
 325 330 335

cga ata aac cgc tcc cca atg tgt gaa tat atg atc aac ttc atc cac 1056
 Arg Ile Asn Arg Ser Pro Met Cys Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His
 340 345 350

aag ctc aaa cac tta cca gag aaa tat atg atg aac agt gtt ttg gaa 1104
 Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu
 355 360 365

aac ttc aca att tta ttg gtg gta aca aac agg gat aca caa gaa act 1152
 Asn Phe Thr Ile Leu Leu Val Val Thr Asn Arg Asp Thr Gln Glu Thr
 370 375 380

cta ctc tgc atg gcc tgt gtg ttt gaa gtt tca aat agt gaa cac gga 1200
 Leu Leu Cys Met Ala Cys Val Phe Glu Val Ser Asn Ser Glu His Gly
 385 390 395 400

gca caa cat cat att tac agg ctt gta aag gac 1233
 Ala Gln His His Ile Tyr Arg Leu Val Lys Asp
 405 410

【 0 1 6 0 】

<210> 27

<211> 427

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Ile Thr Ser Asn Glu Trp Ser Ser Pro Thr Ser Pro Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Ala Ser Gly Gly Ser Gln Ala Leu Asp Lys Pro Ile Asp Asn Asp Ala

20 25 30

Glu Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu

35 40 45

Ala Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu

50 55 60

Gly Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu

65 70 75 80

Arg Thr Gly Lys Thr Arg Thr Arg Lys Gln Val Ser Ser His Ile Gln

85 90 95

Val Leu Ala Arg Arg Lys Ala Arg Glu Ile Gln Ala Lys Leu Lys Asp

100 105 110

Gln Ala Ala Lys Asp Lys Ala Leu Gln Ser Met Ala Ala Met Ser Ser

115

120

125

Ala Gln Ile Ile Ser Ala Thr Ala Phe His Ser Ser Met Ala Leu Ala

130

135

140

Arg Gly Pro Gly Arg Pro Ala Val Ser Gly Phe Trp Gln Gly Ala Leu

145

150

155

160

Pro Gly Gln Ala Gly Thr Ser His Asp Val Lys Pro Phe Ser Gln Gln

165

170

175

Thr Tyr Ala Val Gln Pro Pro Leu Pro Leu Pro Gly Phe Glu Ser Pro

180

185

190

Ala Gly Pro Ala Pro Ser Pro Ser Ala Pro Pro Ala Pro Pro Trp Gln

195

200

205

Gly Arg Ser Val Ala Ser Ser Lys Leu Trp Met Leu Glu Phe Ser Ala

210

215

220

Phe Leu Glu Gln Gln Gln Asp Pro Asp Thr Tyr Asn Lys His Leu Phe

225

230

235

240

Val His Ile Gly Gln Ser Ser Pro Ser Tyr Ser Asp Pro Tyr Leu Glu

245

250

255

Ala Val Asp Ile Arg Gln Ile Tyr Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly

260

265

270

Gly Leu Lys Asp Leu Phe Glu Arg Gly Pro Ser Asn Ala Phe Phe Leu
275 280 285

Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn Thr Asn Ile Glu Asp Glu Gly Ser
290 295 300

Ser Phe Tyr Gly Val Ser Ser Gln Tyr Glu Ser Pro Glu Asn Met Ile
305 310 315 320

Ile Thr Cys Ser Thr Lys Val Cys Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu
325 330 335

Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg Tyr Glu Asn Gly His Tyr Ser Tyr
340 345 350

Arg Ile His Arg Ser Pro Leu Cys Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His
355 360 365

Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu
370 375 380

Asn Phe Thr Ile Leu Gln Val Val Thr Asn Arg Asp Thr Gln Glu Thr
385 390 395 400

Leu Leu Cys Ile Ala Tyr Val Phe Glu Val Ser Ala Ser Glu His Gly
405 410 415

Ala Gln His His Ile Tyr Arg Leu Val Lys Glu

420

425

【0 1 6 1】

<210> 28

<211> 1281

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1284)

<400> 28

att acc tcc aac gag tgg agc tct ccc acc tcc cct gag ggg agc acc 48
Ile Thr Ser Asn Glu Trp Ser Ser Pro Thr Ser Pro Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15

gcc tct ggg ggc agt cag gca ctg gac aag ccc atc gac aat gac gca 96
Ala Ser Gly Gly Ser Gln Ala Leu Asp Lys Pro Ile Asp Asn Asp Ala
20 25 30

gag ggc gtg tgg agc ccg gat att gag cag agt ttc cag gag gcc ctc 144
Glu Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu
35 40 45

gcc atc tac ccg ccc tgt ggc agg cgc aaa atc atc ctg tcg gac gag 192
Ala Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu

50	55	60	
ggc aag atg tat ggt cgg aac gag ctg att gcc cgc tac atc aag ctc			240
Gly Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu			
65	70	75	80
cgg aca ggg aag acc cgc acc agg aag cag gtc tcc agc cac atc cag			288
Arg Thr Gly Lys Thr Arg Thr Arg Lys Gln Val Ser Ser His Ile Gln			
	85	90	95
gtg ctg gct cgt cgc aaa gct cgc gag atc cag gcc aag cta aag gac			336
Val Leu Ala Arg Arg Lys Ala Arg Glu Ile Gln Ala Lys Leu Lys Asp			
	100	105	110
cag gca gct aag gac aag gcc ctg cag agc atg gct gcc atg tcg tct			384
Gln Ala Ala Lys Asp Lys Ala Leu Gln Ser Met Ala Ala Met Ser Ser			
	115	120	125
gca cag atc atc tcc gcc acg gcc ttc cac agt agc atg gcc ctc gcc			432
Ala Gln Ile Ile Ser Ala Thr Ala Phe His Ser Ser Met Ala Leu Ala			
	130	135	140
cgg ggc ccc ggc cgc cca gca gtc tca ggg ttt tgg caa gga gct ttg			480
Arg Gly Pro Gly Arg Pro Ala Val Ser Gly Phe Trp Gln Gly Ala Leu			
145	150	155	160
cca ggc caa gcc gga acg tcc cat gat gtg aag cct ttc tct cag caa			528
Pro Gly Gln Ala Gly Thr Ser His Asp Val Lys Pro Phe Ser Gln Gln			
	165	170	175

acc tat gct gtc cag cct ccg ctg cct ctg cca ggg ttt gag tct cct 576

Thr Tyr Ala Val Gln Pro Pro Leu Pro Leu Pro Gly Phe Glu Ser Pro

180

185

190

gca ggg ccc gcc cca tcg ccc tct gcg ccc ccg gca ccc cca tgg cag 624

Ala Gly Pro Ala Pro Ser Pro Ser Ala Pro Pro Ala Pro Pro Trp Gln

195

200

205

ggc cgc agc gtg gcc agc tcc aag ctc tgg atg ttg gag ttc tct gcc 672

Gly Arg Ser Val Ala Ser Ser Lys Leu Trp Met Leu Glu Phe Ser Ala

210

215

220

ttc ctg gag cag cag cag gac ccg gac acg tac aac aag cac ctg ttc 720

Phe Leu Glu Gln Gln Gln Asp Pro Asp Thr Tyr Asn Lys His Leu Phe

225

230

235

240

gtg cac att ggc cag tcc agc cca agc tac agc gac ccc tac ctc gaa 768

Val His Ile Gly Gln Ser Ser Pro Ser Tyr Ser Asp Pro Tyr Leu Glu

245

250

255

gcc gtg gac atc cgc caa atc tat gac aaa ttc ccg gag aaa aag ggt 816

Ala Val Asp Ile Arg Gln Ile Tyr Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly

260

265

270

gga ctc aag gat ctc ttc gaa cgg gga ccc tcc aat gcc ttt ttt ctt 864

Gly Leu Lys Asp Leu Phe Glu Arg Gly Pro Ser Asn Ala Phe Phe Leu

275

280

285

gtg aag ttc tgg gca gac ctc aac acc aac atc gag gat gaa ggc agc	912
Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn Thr Asn Ile Glu Asp Glu Gly Ser	
290 295 300	
tcc ttc tat ggg gtc tcc agc cag tat gag agc ccc gag aac atg atc	960
Ser Phe Tyr Gly Val Ser Ser Gln Tyr Glu Ser Pro Glu Asn Met Ile	
305 310 315 320	
atc acc tgc tcc acg aag gtc tgc tct ttc ggc aag cag gtg gtg gag	1008
Ile Thr Cys Ser Thr Lys Val Cys Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu	
325 330 335	
aaa gtt gag aca gag tat gct cgc tat gag aat gga cac tac tct tac	1056
Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg Tyr Glu Asn Gly His Tyr Ser Tyr	
340 345 350	
cgc atc cac cgg tcc ccg ctc tgt gag tac atg atc aac ttc atc cac	1104
Arg Ile His Arg Ser Pro Leu Cys Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His	
355 360 365	
aag ctc aag cac ctc cct gag aag tac atg atg aac agc gtg ctg gag	1152
Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu	
370 375 380	
aac ttc acc atc ctg cag gtg gtc acc aac aga gac aca cag gag acc	1200
Asn Phe Thr Ile Leu Gln Val Val Thr Asn Arg Asp Thr Gln Glu Thr	
385 390 395 400	
ttg ctg tgc att gcc tat gtc ttt gag gtg tca gcc agt gag cac ggg	1248

Leu Leu Cys Ile Ala Tyr Val Phe Glu Val Ser Ala Ser Glu His Gly

405

410

415

gct cag cac cac atc tac agg ctg gtg aaa gaa

1281

Ala Gln His His Ile Tyr Arg Leu Val Lys Glu

420

425

【0 1 6 2】

<210> 29

<211> 435

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Ile Ala Ser Asn Ser Trp Asn Ala Ser Ser Ser Pro Gly Glu Ala Arg

1

5

10

15

Glu Asp Gly Pro Glu Gly Leu Asp Lys Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu

20

25

30

Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu Ala

35

40

45

Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu Gly

50

55

60

Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu Arg

80

95

110

125

140

160

175

190

205

220

Leu Arg Leu Leu Glu Tyr Ser Ala Phe Met Glu Val Gln Arg Asp Pro
225 230 235 240

Asp Thr Tyr Ser Lys His Leu Phe Val His Ile Gly Gln Thr Asn Pro
245 250 255

Ala Phe Ser Asp Pro Pro Leu Glu Ala Val Asp Val Arg Gln Ile Tyr
260 265 270

Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly Gly Leu Lys Glu Leu Tyr Glu Lys
275 280 285

Gly Pro Pro Asn Ala Phe Phe Leu Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn
290 295 300

Ser Thr Ile Gln Glu Gly Pro Gly Ala Phe Tyr Gly Val Ser Ser Gln
305 310 315 320

Tyr Ser Ser Ala Asp Ser Met Thr Ile Ser Val Ser Thr Lys Val Cys
325 330 335

Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg
340 345 350

Leu Glu Asn Gly Arg Phe Val Tyr Arg Ile His Arg Ser Pro Met Cys
355 360 365

Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys
370 375 380

Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu Asn Phe Thr Ile Leu Gln Val Val
385 390 395 400

Thr Ser Arg Asp Ser Gln Glu Thr Leu Leu Val Ile Ala Phe Val Phe
405 410 415

Glu Val Ser Thr Ser Glu His Gly Ala Gln His His Val Tyr Lys Leu
420 425 430

Val Lys Asp

【0 1 6 3】

<210> 30

<211> 1305

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(1305)

<400> 30

ata gcg tcc aac agc tgg aac gcc agc agc agc ccc ggg gag gcc cgg 48

Ile Ala Ser Asn Ser Trp Asn Ala Ser Ser Ser Pro Gly Glu Ala Arg

1

5

10

15

gag gat ggg ccc gag ggc ctg gac aag ggg ctg gac aac gat gcg gag	96
Glu Asp Gly Pro Glu Gly Leu Asp Lys Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu	
20 25 30	
ggc gtg tgg agc ccg gac atc gag cag agc ttc cag gag gcc ctg gcc	144
Gly Val Trp Ser Pro Asp Ile Glu Gln Ser Phe Gln Glu Ala Leu Ala	
35 40 45	
atc tac ccg ccc tgc ggc cgg cgg aag atc atc ctg tca gac gag ggc	192
Ile Tyr Pro Pro Cys Gly Arg Arg Lys Ile Ile Leu Ser Asp Glu Gly	
50 55 60	
aag atg tac ggc cga aat gag ttg att gca cgc tat att aaa ctg agg	240
Lys Met Tyr Gly Arg Asn Glu Leu Ile Ala Arg Tyr Ile Lys Leu Arg	
65 70 75 80	
acg ggg aag act cgg acg aga aaa cag gtg tcc agc cac ata cag gtt	288
Thr Gly Lys Thr Arg Thr Arg Lys Gln Val Ser Ser His Ile Gln Val	
85 90 95	
cta gct cgg aag aag gtg cgg gag tac cag gtt ggc atc aag gcc atg	336
Leu Ala Arg Lys Lys Val Arg Glu Tyr Gln Val Gly Ile Lys Ala Met	
100 105 110	
aac ctg gac cag gtc tcc aag gac aaa gcc ctt cag agc atg gcg tcc	384
Asn Leu Asp Gln Val Ser Lys Asp Lys Ala Leu Gln Ser Met Ala Ser	
115 120 125	
atg tcc tct gcc cag atc gtc tct gcc agt gtc ctg cag aac aag ttc	432

Met Ser Ser Ala Gln Ile Val Ser Ala Ser Val Leu Gln Asn Lys Phe

130

135

140

agc cca cct tcc cct ctg ccc cag gcc gtc ttc tcc act tcc tcg cgg 480

Ser Pro Pro Ser Pro Leu Pro Gln Ala Val Phe Ser Thr Ser Ser Arg

145

150

155

160

ttc tgg agc agc ccc cct ctc ctg gga cag cag cct gga ccc tct cag 528

Phe Trp Ser Ser Pro Pro Leu Leu Gly Gln Gln Pro Gly Pro Ser Gln

165

170

175

gac atc aag ccc ttt gca cag cca gcc tac ccc atc cag ccg ccc ctg 576

Asp Ile Lys Pro Phe Ala Gln Pro Ala Tyr Pro Ile Gln Pro Pro Leu

180

185

190

ccg ccg acg ctc agc agt tat gag ccc ctg gcc ccg ctc ccc tca gct 624

Pro Pro Thr Leu Ser Ser Tyr Glu Pro Leu Ala Pro Leu Pro Ser Ala

195

200

205

gct gcc tct gtg cct gtg tgg cag gac cgt acc att gcc tcc tcc cgg 672

Ala Ala Ser Val Pro Val Trp Gln Asp Arg Thr Ile Ala Ser Ser Arg

210

215

220

ctg cgg ctc ctg gag tat tca gcc ttc atg gag gtg cag cga gac cct 720

Leu Arg Leu Leu Glu Tyr Ser Ala Phe Met Glu Val Gln Arg Asp Pro

225

230

235

240

gac acg tac agc aaa cac ctg ttt gtg cac atc ggc cag acg aac ccc 768

Asp Thr Tyr Ser Lys His Leu Phe Val His Ile Gly Gln Thr Asn Pro

245	250	255	
gcc ttc tca gac cca ccc ctg gag gca gta gat gtg cgc cag atc tat			816
Ala Phe Ser Asp Pro Pro Leu Glu Ala Val Asp Val Arg Gln Ile Tyr			
260	265	270	
gac aaa ttc ccc gag aaa aag gga gga ttg aag gag ctc tat gag aag			864
Asp Lys Phe Pro Glu Lys Lys Gly Gly Leu Lys Glu Leu Tyr Glu Lys			
275	280	285	
ggg ccc cct aat gcc ttc ttc ctt gtc aag ttc tgg gcc gac ctc aac			912
Gly Pro Pro Asn Ala Phe Phe Leu Val Lys Phe Trp Ala Asp Leu Asn			
290	295	300	
agc acc atc cag gag ggc ccg gga gcc ttc tat ggg gtc agc tct cag			960
Ser Thr Ile Gln Glu Gly Pro Gly Ala Phe Tyr Gly Val Ser Ser Gln			
305	310	315	320
tac agc tct gct gat agc atg acc atc agc gtc tcc acc aag gtg tgc			1008
Tyr Ser Ser Ala Asp Ser Met Thr Ile Ser Val Ser Thr Lys Val Cys			
325	330	335	
tcc ttt ggc aaa cag gtg gta gag aag gtg gag act gag tat gcc agg			1056
Ser Phe Gly Lys Gln Val Val Glu Lys Val Glu Thr Glu Tyr Ala Arg			
340	345	350	
ctg gag aac ggg cgc ttt gtg tac cgt atc cac cgc tcg ccc atg tgc			1104
Leu Glu Asn Gly Arg Phe Val Tyr Arg Ile His Arg Ser Pro Met Cys			
355	360	365	

gag tac atg atc aac ttc atc cac aag ctg aag cac ctg ccc gag aag 1152

Glu Tyr Met Ile Asn Phe Ile His Lys Leu Lys His Leu Pro Glu Lys

370

375

380

tac atg atg aac agc gtg ctg gag aac ttc acc atc ctg cag gtg gtc 1200

Tyr Met Met Asn Ser Val Leu Glu Asn Phe Thr Ile Leu Gln Val Val

385

390

395

400

acg agc cgg gac tcc cag gag acc ttg ctt gtc att gct ttt gtc ttc 1248

Thr Ser Arg Asp Ser Gln Glu Thr Leu Leu Val Ile Ala Phe Val Phe

405

410

415

gaa gtc tcc acc agt gag cac ggg gcc cag cac cat gtc tac aag ctc 1296

Glu Val Ser Thr Ser Glu His Gly Ala Gln His His Val Tyr Lys Leu

420

425

430

gtc aaa gac

1305

Val Lys Asp

435

【0 1 6 4】

<210> 31

<211> 1132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val

145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr

165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly

180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg

195 200 205

Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg

210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg

225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp

245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val

260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala

275 280 285

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His

290 295 300

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305 310 315 320

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
325 330 335

Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile

610	615	620	
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val			
625	630	635	640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser			
645	650	655	
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg			
660	665	670	
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg			
675	680	685	
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro			
690	695	700	
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile			
705	710	715	720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln			
725	730	735	
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His			
740	745	750	
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp			
755	760	765	

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser

930

935

940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe

945

950

955

960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly

965

970

975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn

980

985

990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln

995

1000

1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln

1010

1015

1020

Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala

1025

1030

1035

1040

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu

1045

1050

1055

Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp

1060

1065

1070

Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr

1075

1080

1085

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser

1090

1095

1100

Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn

1105

1110

1115

1120

Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp

1125

1130

【 0 1 6 5 】

<210> 32

<211> 3396

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<223> (1)..(3399)

<400> 32

atg ccg cgc gct ccc cgc tgc cga gcc gtg cgc tcc ctg ctg cgc agc 48

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser

1

5

10

15

cac tac cgc gag gtg ctg ccg ctg gcc acg ttc gtg cgg cgc ctg ggg 96

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly

20

25

30

ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac ccg gcg gct ttc cgc 144

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg

35

40

45

gcg ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg ccg 192

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro

50

55

60

ccc ccc gcc gcc ccc tcc ttc cgc cag gtg tcc tgc ctg aag gag ctg 240

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu

65

70

75

80

gtg gcc cga gtg ctg cag agg ctg tgc gag cgc ggc gcg aag aac gtg 288

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val

85

90

95

ctg gcc ttc ggc ttc gcg ctg ctg gac ggg gcc cgc ggg ggc ccc ccc 336

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro

100

105

110

gag gcc ttc acc acc agc gtg cgc agc tac ctg ccc aac acg gtg acc 384

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr

115

120

125

gac gca ctg cgg ggg agc ggg gcg tgg ggg ctg ctg ctg cgc cgc gtg 432

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val

130	135	140	
ggc gac gac gtg ctg gtt cac ctg ctg gca cgc tgc gcg ctc ttt gtg			480
Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val			
145	150	155	160
ctg gtg gct ccc agc tgc gcc tac cag gtg tgc ggg ccg ccg ctg tac			528
Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr			
	165	170	175
cag ctc ggc gct gcc act cag gcc cgg ccc ccg cca cac gct agt gga			576
Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly			
	180	185	190
ccc cga agg cgt ctg gga tgc gaa cgg gcc tgg aac cat agc gtc agg			624
Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg			
	195	200	205
gag gcc ggg gtc ccc ctg ggc ctg cca gcc ccg ggt gcg agg agg cgc			672
Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg			
	210	215	220
ggg ggc agt gcc agc cga agt ctg ccg ttg ccc aag agg ccc agg cgt			720
Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg			
225	230	235	240
ggc gct gcc cct gag ccg gag cgg acg ccc gtt ggg cag ggg tcc tgg			768
Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp			
	245	250	255

gcc cac ccg ggc agg acg cgt gga ccg agt gac cgt ggt ttc tgt gtg 816

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val

260

265

270

gtg tca cct gcc aga ccc gcc gaa gaa gcc acc tct ttg gag ggt gcg 864

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala

275

280

285

ctc tct ggc acg cgc cac tcc cac cca tcc gtg ggc cgc cag cac cac 912

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His

290

295

300

gcg ggc ccc cca tcc aca tcg cgg cca cca cgt ccc tgg gac acg cct 960

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro

305

310

315

320

tgt ccc ccg gtg tac gcc gag acc aag cac ttc ctc tac tcc tca ggc 1008

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly

325

330

335

gac aag gag cag ctg cgg ccc tcc ttc cta ctc agc tct ctg agg ccc 1056

Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro

340

345

350

agc ctg act ggc gct cgg agg ctc gtg gag acc atc ttt ctg ggt tcc 1104

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser

355

360

365

agg ccc tgg atg cca ggg act ccc cgc agg ttg ccc cgc ctg ccc cag 1152

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln

370

375

380

cgc tac tgg caa atg cgg ccc ctg ttt ctg gag ctg ctt ggg aac cac 1200

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His

385

390

395

400

gcg cag tgc ccc tac ggg gtg ctc ctc aag acg cac tgc ccg ctg cga 1248

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg

405

410

415

gct gcg gtc acc cca gca gcc ggt gtc tgt gcc cgg gag aag ccc cag 1296

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln

420

425

430

ggc tct gtg gcg gcc ccc gag gag gag gac aca gac ccc cgt cgc ctg 1344

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu

435

440

445

gtg cag ctg ctc cgc cag cac agc agc ccc tgg cag gtg tac ggc ttc 1392

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe

450

455

460

gtg cgg gcc tgc ctg cgc cgg ctg gtg ccc cca ggc ctc tgg ggc tcc 1440

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser

465

470

475

480

agg cac aac gaa cgc cgc ttc ctc agg aac acc aag aag ttc atc tcc 1488

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser

485

490

495

ctg ggg aag cat gcc aag ctc tcg ctg cag gag ctg acg tgg aag atg 1536

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met

500

505

510

agc gtg cgg gac tgc gct tgg ctg cgc agg agc cca ggg gtt ggc tgt 1584

Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys

515

520

525

gtt ccg gcc gca gag cac cgt ctg cgt gag gag atc ctg gcc aag ttc 1632

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe

530

535

540

ctg cac tgg ctg atg agt gtg tac gtc gtc gag ctg ctc agg tct ttc 1680

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe

545

550

555

560

ttt tat gtc acg gag acc acg ttt caa aag aac agg ctc ttt ttc tac 1728

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr

565

570

575

cgg aag agt gtc tgg agc aag ttg caa agc att gga atc aga cag cac 1776

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His

580

585

590

ttg aag agg gtg cag ctg cgg gag ctg tcg gaa gca gag gtc agg cag 1824

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln

595	600	605	
cat cgg gaa gcc agg ccc gcc ctg ctg acg tcc aga ctc cgc ttc atc			1872
His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile			
610	615	620	
ccc aag cct gac ggg ctg cgg ccg att gtg aac atg gac tac gtc gtg			1920
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val			
625	630	635	640
gga gcc aga acg ttc cgc aga gaa aag agg gcc gag cgt ctc acc tcg			1968
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser			
645	650	655	
agg gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gcg cgg cgc			2016
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg			
660	665	670	
ccc ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac agg			2064
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg			
675	680	685	
gcc tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg cct			2112
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro			
690	695	700	
gag ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc atc			2160
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile			
705	710	715	720

ccc cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc cag 2208

Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln

725

730

735

aac acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc cat 2256

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His

740

745

750

ggg cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca gac 2304

Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp

755

760

765

ctc cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc agc 2352

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser

770

775

780

ccg ctg agg gat gcc gtc gtc atc gag cag agc tcc tcc ctg aat gag 2400

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu

785

790

795

800

gcc agc agt ggc ctc ttc gac gtc ttc cta cgc ttc atg tgc cac cac 2448

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His

805

810

815

gcc gtg cgc atc agg ggc aag tcc tac gtc cag tgc cag ggg atc ccg 2496

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro

820

825

830

cag ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc gac 2544

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp

835

840

845

atg gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc ctg 2592

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu

850

855

860

cgt ttg gtg gat gat ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg 2640

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala

865

870

875

880

aaa acc ttc ctc agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc 2688

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys

885

890

895

gtg gtg aac ttg cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag 2736

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu

900

905

910

gcc ctg ggt ggc acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc 2784

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe

915

920

925

ccc tgg tgc ggc ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc 2832

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser

930

935

940

gac tac tcc agc tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc 2880

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

aac cgc ggc ttc aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg 2928
Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

gtc ttg cgg ctg aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac 2976
Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

agc ctc cag acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag 3024
Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

gcg tac agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag caa 3072
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln
1010 1015 1020

gtt tgg aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac acg gcc 3120
Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
1025 1030 1035 1040

tcc ctc tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg atg tcg ctg 3168
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
1045 1050 1055

ggg gcc aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag gcc gtg cag tgg 3216
Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp

1060	1065	1070	
ctg tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act cga cac cgt gtc acc			3264
Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr			
1075	1080	1085	
tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca gcc cag acg cag ctg agt			3312
Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser			
1090	1095	1100	
cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act gcc ctg gag gcc gca gcc aac			3360
Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn			
1105	1110	1115	1120
ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag acc atc ctg gac			3396
Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp			
1125	1130		

【0 1 6 6】

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 33

ttggcttcca ggccataatt g

21

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 34

aagagggcag atctatcgga

20

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 35

atggatctcc tgaaggtgct

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 36

aagagggcag atctatcgga

20

<210> 37

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 37

ggaagagtga gcggccatca agg

23

<210> 38

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 38

ctgctggaga ggttattcct cg

22

【 0 1 6 7 】

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 39

gccaacacca acctgtccaa gttc

24

<210> 40

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 40

tgcaaaggct ccaggctga gggc

24

<210> 41

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 41

ctctctctcc tcaggacaa

19

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially

synthesized primer sequence

<400> 42

tggagcaaaa cagaatggct gg

22

<210> 43

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 43

ctgagatgtc tctctctctc ttag

24

【 0 1 6 8 】

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 44

acaatgactg atgagagatg

20

<210> 45

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 45

cagacctgaa ggagacct

18

<210> 46

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 46

gtcagcgtaa acagttgc

18

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 47

gcccaagaagc ggatagaagg

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 48

ctgtggttca gggctcagtc

20

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 49

cagtggagct ggacaaagcc

20

【 0 1 6 9 】

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 50

tagcgacggt tctggaacca

20

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 51

ctgtcatctc actatgggca

20

<210> 52

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 52

ccaagtccga gcaggaattt

20

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially

synthesized primer sequence

<400> 53

aagacgtcaa gccctttgtg

20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 54

aaaggagcac actttggtgg

20

【 0 1 7 0 】

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 55

agcaagaata cgatgccatc

20

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 56

gaaggggtgg tggtagcggtc

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 57

tggaatggc tatgtcagtg

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificially
synthesized primer sequence

<400> 58

ctggtaatct gtgtttagg

20

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 骨髄中の細胞から心筋形成能を有する細胞を特定し、該細胞の増殖または分化に働くサイトカインまたは転写因子を同定することが必要である。

【解決手段】 本発明は、心筋形成能を有する骨髄細胞の単離、精製、培養、分化誘導法に関する。各種サイトカイン、転写因子などを用いた、心筋形成能を有する骨髄細胞の増殖および心筋分化制御の方法に関する。心筋形成能を有する骨髄細胞に特異的な表面抗原の取得方法、該表面抗原をコードする遺伝子の取得方法、該表面抗原特異的な抗体の取得方法、心筋形成能を有する骨髄細胞の増殖および心筋分化に関与する蛋白質および遺伝子の取得方法に関する。また、心筋形成能を有する骨髄細胞を用いた各種心臓疾患の治療薬に関する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 1 0 2 9]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 6 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都千代田区大手町 1 丁目 6 番 1 号

氏 名 協和醗酵工業株式会社